

# **Efectos de la heterogeneidad del paisaje agrícola pampeano sobre el carbono, la biota edáfica y la descomposición de la hojarasca**

*Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires,  
Área Ciencias Agropecuarias*

**Luciana D'Acunto**

Ingeniera agrónoma, Facultad de Agronomía-UBA (2009)

Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires



**FAUBA**

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano  
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



## COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis

**María Semmartin**

Ingeniera Agrónoma (UBA)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (UBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (UBA)

Co-director

**Claudio Marco Ghersa**

Ingeniero Agrónomo (Universidad de Buenos Aires)

Consejero de Estudios

**Marina Omacini**

Licenciatura en Ciencias Biológicas (C.A.E.C.E.)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (UBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (UBA)

## JURADO DE TESIS

Director de tesis

**María Semmartin**

Ingeniera Agrónoma (UBA)

Magister Scientiae en Recursos Naturales (UBA)

Doctora en Ciencias Agropecuarias (UBA)

JURADO

**Ana María Cingolani**

Licenciada en Ciencias Biológicas (UBA)

Doctora en Ciencias Biológicas (UBA)

JURADO

**Nestor Ignacio Gasparri**

Ingeniero Forestal (UNLP)

Doctor en Biología (UNT)

JURADO

**Miguel Ángel Taboada**

Ingeniero Agrónomo (UBA)

Magister Scientiae en Ciencias del Suelo (UBA)

Docteur Fonctionnement Ecosystèmes et Agrosystèmes (INPT, Francia)

Fecha de defensa de la tesis: 9 de marzo de 2015

## INDICE DE CONTENIDOS

---

Índice de contenidos .....	ii
Índice de figuras.....	v
Índice de cuadros .....	x
Dedicatoria.....	xii
Agradecimientos. ....	xiii
Declaración.....	xiv
Publicaciones .....	xv
Resumen .....	xvi
Efectos de la heterogeneidad del paisaje agrícola pampeano sobre el carbono, la biota edáfica y la descomposición de la hojarasca.	
Abstract .....	xviii
Effects of Pampa agricultural landscape heterogeneity on carbon soil, soil biota and litter decomposition.	

## Capítulo 1

---

### INTRODUCCION GENERAL

1.1 Introducción.....	1
1.1.1 El caso de la Pampa Ondulada.....	3
1.2 Objetivo general.....	5
1.2.1 Objetivos específicos.....	5
1.3 Hipótesis general.....	5
1.3.1 Hipótesis y predicciones específicas.....	6
1.4 Esquema de la tesis.....	7

## Capítulo 2

---

### EFFECTOS DE LA HETEROGENEIDAD ESPACIAL DEL AGROECOSISTEMA PAMPEANO SOBRE LOS RESERVORIOS DE CARBONO, LA BIOTA EDÁFICA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA

2.1 Introducción.....	8
-----------------------	---

2.2 Objetivo.....	10
2.3 Hipótesis.....	10
2.4 Materiales y métodos.....	11
2.4.1 Descripción del sitio de estudio.....	11
2.4.2 Descripción de los estudios realizados.....	14
2.4.3 Variables de respuesta.....	16
2.4.3.1 Biomasa aérea, hojarasca y variables del suelo.....	16
2.4.3.2 Microorganismos del suelo.....	17
2.4.3.3 Tasas de descomposición y respiración del suelo.....	18
2.4.4 Análisis estadísticos.....	21
2.5 Resultados.....	22
2.6 Discusión.....	37
2.7 Apéndice de cuadros anexos.....	43

### Capítulo 3

---

#### EFFECTOS DE LA HETEROGENEIDAD TEMPORAL DEBIDA A LAS SECUENCIAS DE CULTIVOS SOBRE LA BIOTA EDÁFICA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA

3.1 Introducción.....	45
3.2 Objetivo.....	47
3.3 Hipótesis.....	47
3.4 Materiales y métodos.....	47
3.4.1 Descripción del sitio de estudio.....	47
3.4.2 Descripción de los estudios realizados.....	48
3.4.3 Variables de respuesta.....	50
3.4.3.1 Hojarasca, variables del suelo y microbiota edáfica.....	50

3.4.3.2 Tasas de descomposición y respiración del suelo.....	50
3.4.4 Análisis estadísticos.....	52
3.5 Resultados.....	52
3.6 Discusión.....	59

## Capítulo 4

---

### INFLUENCIA DE LOS MÁRGENES NO CULTIVADOS SOBRE LOTES AGRÍCOLAS VECINOS

4.1 Introducción.....	63
4.2. Objetivo.....	65
4.3. Hipótesis.....	65
4.4 Materiales y métodos.....	65
4.4.1 Diseño del experimento.....	65
4.4.2 Variables de respuesta.....	67
4.4.2.1. Hojarasca y variables del suelo.....	67
4.4.2.2. Microorganismos del suelo.....	67
4.4.2.3. Tasas de descomposición.....	67
4.4.3 Análisis estadísticos.....	69
4.5 Resultados.....	70
4.6 Discusión.....	75

## Capítulo 5

---

### DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Los aportes de esta tesis al conocimiento.....	81
5.2. Conclusiones finales.....	86
Bibliografía.....	88

## INDICE DE FIGURAS

---

**Figura 2.1** Ubicación del área de estudio (óvalo) dentro de la Pampa Ondulada (línea de puntos) y de la región de pastizales del Río de la Plata (línea discontinua) (adaptado de Soriano et al. 1991), y sitios experimentales (línea continua). Las cruces señalan los tres establecimientos en donde se realizaron las mediciones de este capítulo y los experimentos de las secuencia de cultivos (capítulo 3) (adaptado de Andrade 2012).....13

**Figura 2.2** Carbono total y lábil de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Las barras representan la media para cada tipo de parche. Las líneas verticales indican  $\pm 1$  error estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los tipos de parche ( $P < 0,05$ ).....25

**Figura 2.3** Nitrógeno total y pH de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Las barras representan la media para cada tipo de parche. Las líneas verticales indican  $\pm 1$  error estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los tipos de parche ( $P < 0,05$ ).....26

**Figura 2.4** Temperatura y humedad volumétrica de la capa superior del suelo (15cm) durante el día (barras blancas) y durante la noche (barras negras) en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Los datos representan los valores medios con el error estándar entre paréntesis ( $n=3$ ).....27

**Figura 2.5** Relación entre la constante de descomposición ( $k$ ) y el carbono total del suelo de cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires), y el contenido de lignina de la hojarasca. Los datos de lignina corresponden al valor medio del contenido de lignina de la hojarasca de los lotes agrícolas (puntos blancos) y los márgenes no cultivados herbáceos (puntos grises) y leñosos(puntos negros). La línea es la ecuación de regresión.....30

**Figura 2.6** Tasa de respiración de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Estas tasas se obtuvieron en un experimento de descomposición en invernáculo a los 30, 60 y 90 días de incubación. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....32

**Figura 2.7** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Cada punto representa el promedio de los lotes agrícolas y márgenes herbáceos y leñosos en cada una de las localidades (Junín, Pergamino y San Pedro).....33

**Figura 2.8** Posición en el primer eje del ordenamiento del análisis de componentes principales (Figura 2.8) de perfiles catabólicos de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....34

**Figura 2.9** Índice de Shannon- Weaver (H) de diversidad funcional microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....35

**Figura 2.10** Relación entre la diversidad microbiana y el carbono total y lábil del suelo, el nitrógeno total y el pH de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica. Los puntos representan el promedio de los lotes agrícolas, y márgenes herbáceos y leñosos en cada localidad (Junín, Pergamino y San Pedro). Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados. ....36

**Figura 3.1** Esquema del diseño experimental y las mediciones. Cada secuencia (sin cultivo-soja, cebada-soja y arveja-maíz, cada una de ellas seguida una secuencia de trigo-soja) contó con dos repeticiones en cada una de las tres localidades estudiadas (Junín, Pergamino y San Pedro). La flecha indica el momento en el que se recolectaron las muestras de suelo y hojarasca al final del segundo año de experimentación.....49

**Figura 3.2** Hojarasca producida en lotes agrícolas sometidos a distinta secuencia de cultivos en la Pampa Ondulada: sin cultivo invernoso-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas entre secuencias (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....54

**Figura 3.3** pH y contenido gravimétrico de humedad de suelos provenientes de lotes agrícolas sometidos a distinta secuencia de cultivos en la Pampa Ondulada: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas entre secuencias (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....55

**Figura 3.4** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelo provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Cada punto representa la secuencia en cada una de las tres localidades estudiadas. Las fuentes de carbono en ambos ejes son las que presentaron mayor variación en el patrón de actividad bacteriana.....55

**Figura 3.5** Posición en el primer eje del ordenamiento de la figura 3.4 de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....56

**Figura 3.6** Índice de Shannon- Weaver (H) de diversidad microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada- soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....56

**Figura 3.7** Relación entre la diversidad microbiana, y la hojarasca y el pH del suelo. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon- Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de diferentes secuencias de cultivos: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Los puntos representan el promedio de las secuencias en cada localidad. Las líneas muestra la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados.....57

**Figura 3.8** Tasa de descomposición ( $k$ ) de residuo de trigo a lo largo de 90 días, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, en suelo provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....58

**Figura 3.9** Tasa de respiración de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja, a los 30, 60 y 90 días de incubación. Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....58



**Figura 3.10** Relación entre la diversidad microbiana, y la tasa de respiración del suelo relativa: tasa de respiración del suelo de cada secuencia / tasa de respiración del suelo promedio del tiempo de incubación de la hojarasca de trigo (todas las secuencias incluidas) para cada una de las fechas. La diversidad microbiana y la tasa de respiración corresponde a suelos provenientes de parcelas bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernacional-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver. Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados..59

**Figura 4.1.** Esquema del diseño experimental y vistas de los márgenes sin cultivar con vegetación permanente herbácea o leñosa y los lotes de soja vecinos a otro lote agrícola. En cada uno de las interfases entre estos ambientes se muestrearon transectas de 50 metros desde el margen hacia el centro los lotes de soja vecinos.....66

**Figura 4.2** Hojarasca, contenido de carbón total y carbón lábil del suelo a lo largo de la interfase margen-lote de soja de márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas (interfase agrícola-agrícola). El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los datos del margen (área sombreada) corresponden a los presentados en el capítulo 2. Los puntos corresponden a los valores medios ( $n=5$ ) y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES. Se aplicó una función con la forma  $y = \alpha * e(\beta * x)$ , donde  $y$ = hojarasca, el carbono total o el carbono lábil del suelo,  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes fijas y  $x$ = distancia.....70

**Figura 4.3** pH del suelo a lo largo de la interfase margen-lote de soja de márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas (interfase agrícola-agrícola). El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los datos del margen (área sombreada) corresponden a los presentados en el capítulo 2. Los puntos corresponden a los valores medios ( $n=5$ ) y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....71

**Figura 4.4** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelos provenientes de lotes de soja en los puntos 2, 4 y 50 m (centro de lote) de las interfases entre lotes de soja y tres tipos de márgenes: dos márgenes sin cultivar, herbáceo (triángulos) y leñoso (cuadrados), y un margen cultivado, agrícola (círculos). Las fuentes de carbono en ambos ejes son las que presentaron mayor variación en el patrón de actividad bacteriana.....72

**Figura 4.5** Posición en el primer eje del ordenamiento de la figura 4.3 de suelos a lo largo de la interfase margen-lote de soja para los márgenes sin cultivar (herbáceo y leñoso) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación, y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....72

**Figura 4.6** Índice de Shannon- Weaver (H) de diversidad microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos a lo largo de la interfase margen-lote de soja para los márgenes sin cultivar (herbáceo y leñoso) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación, y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....73

**Figura 4.7** Relación entre la diversidad microbiana y el pH del suelo de muestras obtenidas en el punto 2 m de las transectas margen-lote de soja. Los círculos corresponden con puntos 2 m de la transecta cultivo - lote de soja, los triángulos de las transectas margen herbáceo - lote de soja y los cuadrados margen leñoso - lotes de soja. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica. Los puntos representan el promedio del punto 2 m de cada transecta entre los márgenes y lotes de soja. Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados.....73

**Figura 4.8** Tasa de descomposición ( $k$ ) de hojarasca de cada tipo de margen no cultivado (herbáceo y leñoso) y de lotes agrícolas en su correspondiente margen (área izquierda sombreada) y en lotes de soja (área derecha). El cero en el eje x corresponde con la zona de intersección entre diferentes tipos de vegetación, y el área izquierda sombreada y derecha corresponden a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....74

**Figura 4.9** Tasa de descomposición ( $k$ ) de dos sustratos comunes: maíz (panel superior) y soja (panel inferior) a lo largo de la interfase margen-lote de soja para márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde con la zona de intersección entre diferentes tipos de vegetación, y el área izquierda sombreada y derecha corresponden a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.....75

## INDICE DE CUADROS

---

<b>Cuadro 2.1</b> Localidades, aproximaciones utilizadas y momentos de muestreo para la estimación de las variables bajo estudio en los márgenes sin cultivar con vegetación permanente herbáceas o leñosa y los lotes de soja.....	15
<b>Cuadro 2.2</b> Resultados del ANOVA (valores de F) del diseño anidado para las variables estimadas en tres tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) a lo largo de una transecta de 100 km que abarcó tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino y San Pedro).....	23
<b>Cuadro 2.3</b> Descripción de la vegetación y la cantidad de hojarasca en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Los datos representan los valores medios con el error estándar entre paréntesis (n=5). Las diferentes letras indican diferencias entre los tipos de parche.....	24
<b>Cuadro 2.4</b> Características iniciales de la hojarasca descompuesta en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a la hojarasca producida en las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Los datos representan los valores medios con el error estándar entre paréntesis (n=3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tipos de parche (LSD Fisher, $\alpha = 0,05$ ).....	28
<b>Cuadro 2.5</b> Constante de descomposición ( $k$ ) estimada a campo de hojarasca propia tres tipos de parche en la localidad de Pergamino (lotes agrícolas, márgenes no cultivados herbáceos y leñosos). La hojarasca estándar de soja y maíz también fue descompuesta a campo en cada uno de los tres tipos de parche. Los datos muestran el error estándar entre paréntesis (n= 5). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tipos de parche (LSD Fisher, $\alpha = 0,05$ ).....	29
<b>Cuadro 2.6</b> Características iniciales de la hojarasca de soja y maíz que fue utilizada como sustratos comunes en el experimento a campo. Los valores muestran el error estándar entre paréntesis (n= 3). Letras distintas indican diferencias significativas entre los dos sustratos (LSD Fisher, $\alpha = 0,05$ ).....	31
<b>Cuadro 2.7</b> Constante de descomposición ( $k$ ) de residuo de soja y de trigo bajo condiciones controladas de humedad y temperatura en suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a lo largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos proveniente de montes con vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Los datos muestran el error estándar entre paréntesis. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tipos de parche (LSD Fisher, $\alpha = 0,05$ ).....	32

<b>Cuadro 3.1</b> Genotipo, fecha de siembra y densidades utilizadas de cada uno de los cultivos incluidos en las secuencias.....	49
---	----

<b>Cuadro 3.2</b> Resultados del ANOVA (valores de F) del diseño anidado para las variables estimadas en parcelas sometidas a distinta secuencia de cultivos en tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino y San Pedro). Los datos de biomasa aérea corresponden a la tesis doctoral en curso de José Andrade (EPG-FAUBA).....	53
---	----

**DEDICATORIA**

---

A mis padres, a mi marido Manuel y a mi hijo Lucas.

## AGRADECIMIENTOS

---

A María mi directora por haberme orientado, escuchado, por su forma de ver las cosas y porque de muchas maneras es un ejemplo a seguir.

A Claudio Ghera por su continuo aporte de ideas, por siempre mostrarme el contexto en donde mis resultados resultan más valiosos y porque sus charlas a lo largo de la tesis siempre resultaron inspiradoras.

A Mariana Omacini por sus aportes y por siempre estar predispuesta para la discusión de ideas.

A Martín Oesterheld por darme la oportunidad de conocer el mundo científico y presentarme a María.

A mis compañeras y amigas Fernanda Reyes, Marta Telesnicki y Marina Oleiro, por escucharme y contenerme durante todos estos años.

A Martín Durante, Patricia Araujo, Grisel Longo, Juan Manuel Piñeiro, Victoria Piazza y Tomás Della Chiesa por ser los mejores compañeros de oficina, por su compañía y estímulo.

A Santiago Poggio y José Andrade por su generosidad al compartir sus experimentos.

A las empresas Las Polvaredas, Santa Juana y El Maizal por su colaboración y por permitirme el uso de sus instalaciones para el muestreo y el establecimiento de mis experimentos.

A la FAUBA, a IFEVA y a la Cátedra de Ecología, por el apoyo recibido y facilitarme las instalaciones.

A Gonzalo Molina, por su invaluable ayuda en el muestreo a campo, en la instalación de los experimentos y por estar siempre dispuesto a acompañarme en las salidas al campo.

A mi padre porque su pasión por su trabajo me inspira y contagia, a mi madre por ser la mejor compañera y a mis hermanas porque son la opinión sincera.

A quienes me llenan de amor y de alegría, Manu, Lucas y Roma.

## **DECLARACIÓN**

---

“Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original, producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.”

## **PUBLICACIONES**

---

D'Acunto L, Semmartin M, Ghera CM (2014) Uncropped field margins to mitigate soil carbon losses in agricultural landscapes. *Agricultural, Ecosystems and Environment* 183: 60-68.



## RESUMEN

---

### EFECTOS DE LA HETEROGENEIDAD DEL PAISAJE AGRÍCOLA PAMPEANO SOBRE EL CARBONO, LA BIOTA EDÁFICA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA

La intensificación de la agricultura es la causa principal de la transformación del paisaje, de la disminución de su heterogeneidad y de la alteración de servicios ecosistémicos como la biodiversidad y el secuestro de carbono. La región Pampeana no ha escapado a este fenómeno global. Esta tesis buscó comprender cómo la heterogeneidad espacial y temporal de un agroecosistema, dada por la presencia de márgenes no cultivados y por diferentes secuencias de cultivos, respectivamente, afectan el contenido de carbono del suelo y la biota edáfica. Para evaluar la heterogeneidad espacial se seleccionaron márgenes con vegetación sin cultivar (leñosa y herbácea) y lotes de soja adyacentes a ellos o a otro cultivo (control). Mediante experimentación a campo y en invernáculo se caracterizaron el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica, la calidad de la hojarasca y su tasa de descomposición. Estas propiedades se evaluaron tanto en los márgenes como la interfase con sus cultivos adyacentes. Para evaluar la heterogeneidad temporal se realizó un experimento de descomposición en invernáculo con suelo proveniente de lotes que habían sido inicialmente sometidos a diferentes secuencias de cultivos, y luego a una última secuencia común. Los resultados principales muestran que los ambientes herbáceos no se diferencian de los agrícolas, mientras que los suelos de los ambientes leñosos contienen un 50% más de carbono en la capa superficial del suelo. Además los ambientes herbáceos y leñosos poseen una mayor diversidad que la hallada en ambientes cultivados (14 y 25% más respectivamente). A su vez, solo los márgenes leñosos tuvieron influencia sobre el carbono del suelo y la biota edáfica de los primeros metros de la interfase con los lotes cultivados adyacentes. Las tasas de descomposición de la hojarasca difirieron entre los tipos de margen y fue menor en los leñosos, pero no fue afectada por cambios microambientales del sitio de descomposición. Las diferentes secuencias de cultivos modificaron la cantidad y calidad de la hojarasca producida y la diversidad funcional microbiana. La incorporación de un solo cultivo diferente en la secuencia aumenta significativamente la diversidad funcional microbiana (4%), mientras que la inclusión de dos cultivos diferentes aumentó la diversidad un 26% respecto de secuencias sometidas al monocultivo. Las diferentes secuencias no afectaron la tasas de descomposición de un sustrato común, aunque esta se relacionó positivamente con la diversidad funcional microbiana. La mayor diversidad funcional microbiana se registró en la secuencia arveja-maíz. Los resultados de esta tesis sugieren que los márgenes con vegetación leñosa podrían constituir focos de acumulación de carbono en la capa superficial del suelo y de diversidad funcional de la microbiota del suelo. Asimismo, la incorporación

de cultivos como maíz y arveja en las secuencias podrían aumentar la diversidad funcional microbiana en el paisaje.

*Palabras clave:* intensificación agrícola, agroecosistema, márgenes agrícolas, secuencias de cultivos, diversidad microbiana.

## ABSTRACT

---

### EFFECTS OF AGRICULTURAL LANDSCAPE HETEROGENEITY ON CARBON, SOIL BIOTA AND LITTER DECOMPOSITION IN PAMPA REGION, ARGENTINA

Agricultural intensification is a major cause of habitat transformation, landscape heterogeneity changes and ecosystem services alteration such as biodiversity and soil carbon sequestration. The Pampas region has not escaped this global phenomenon. The aim of this thesis was to understand how the spatial and temporal heterogeneity of agroecosystems, given by the presence of uncultivated margins and different crop sequences, affects soil carbon pools and soil biota. To assess the spatial heterogeneity, uncultivated margins (woody and herbaceous) and soybean fields adjacent to any of the uncultivated margins and to another crop (control treatment) were selected. Carbon pools, soil biota, plant residues quality and their decomposition rates were characterized through field and greenhouse experimentation. These properties and processes were evaluated in uncultivated margins, adjacent soybean crops and along their interfaces (margin - crop). To evaluate the temporal heterogeneity a greenhouse experiment was conducted on soil mesocosms coming from paddocks that had been subjected to different cropping sequences and a had had a common sequence at the end. The main results showed that herbaceous margins did not differ from cropped margins, while woody margins soil contain 50% more carbon in the topsoil. Besides the herbaceous and woody margins are more diverse than cropped (14 and 25% respectively). In turn, only woody margins influence soil carbon and soil biota of the adjacent cultivated field. The lower rates of woody margins were associated with the higher lignin contents. However, litter decomposition rates were not affected by micro-environmental conditions. Different crop sequences altered litter quantity and quality, and microbial functional diversity. One different crop in the sequence significantly increases the microbial functional diversity (4%), while the inclusion of two different crops increased 26% microbial diversity than monoculture. Although microbial diversity was positively associated with litter decomposition, it did not affect the decomposition rate of a common substrate. Pea - maize sequence showed the highest microbial functional diversity. This variation was positively associated with litter quantity and soil pH. These findings suggest that woody margins constitute the unique element that could act as carbon soil and microbial functional diversity reservoirs in this agricultural landscape. In turn, crops such as corn and peas in cropping sequences could increase the microbial functional diversity in the landscape.

**Keywords:** agricultural intensification, agroecosystem, margins, crops rotation, microbial diversity.

## CAPÍTULO 1

---

### INTRODUCCIÓN GENERAL

#### 1.1 Introducción

La intensificación productiva de la tierra resultó en la fragmentación y el reemplazo parcial de ambientes más complejos por otros más simples, y menos diversos, en el tiempo y en el espacio. Este proceso involucró un mayor uso de insumos (fertilizantes, agroquímicos) y la especialización de la producción en unos pocos cultivos anuales. No obstante, el aumento de la producción por unidad de superficie lograda a partir de estos cambios ha reducido la diversidad biológica y ha deteriorado numerosos servicios ecosistémicos (Foley et al. 2005). Estudios realizados a distintas escalas y aproximaciones confirman los efectos negativos de la expansión de la agricultura sobre los ecosistemas como consecuencia de la fragmentación del paisaje (Matson et al. 1997, Burel et al. 1998, Benton et al. 2003, Tscharntke et al. 2005, Norris 2008). En zonas templadas este fenómeno ha aumentado la concentración atmosférica de gases con efecto invernadero (Mosier et al. 1991, 1998), ha alterado la dinámica del carbono y del agua (Baron et al. 1998). También ha modificado algunas propiedades del suelo (Burke et al. 1989, Robles y Burke 1997), ha profundizado procesos de erosión (Pimentel et al. 1995) y de pérdida de biodiversidad (McLaughlin y Mineau 1995; Benton et al. 2003).

La presencia de ambientes poco disturbados en los márgenes adyacentes a lotes agrícolas puede amortiguar el impacto negativo de la fragmentación del paisaje mediante el intercambio de especies, propágulos, materiales y señales, la provisión de refugios y la conexión de distintos ambientes (Erlich y Mooney 1983, Burel et al. 1998, Turner et al. 2001, González y Chaneton 2002, Rantalainen et al. 2004). No obstante, la magnitud del efecto amortiguador del margen dependerá de la estructura y del funcionamiento de las comunidades presentes en el propio margen y en el resto del paisaje (Landis y Marino 1999). Las áreas de contacto entre margen y lote agrícola pueden aumentar o bien disminuir los valores de algunos parámetros del ecosistema (e.g. biomasa aérea, biodiversidad). A su vez, los cambios pueden ser más o menos graduales con respecto a los ambientes que vincula (márgenes y lotes), como producto de la creación de nuevos micrositios en el paisaje al aumentar la fragmentación (Klein et al. 2003, Ewers y Didham 2008).

En los agroecosistemas la heterogeneidad está dada por la composición del mosaico agrícola, es decir por el arreglo espacial de sus ambientes cultivados y no cultivados, y por la diversidad de cultivos en los lotes agrícolas (Marshall et al. 2003, Schmidt et al. 2005, Bennett et al. 2006). En estos sistemas, la fragmentación del hábitat puede afectar distintos tipos de organismos y procesos ecosistémicos, como el ciclado del carbono. Por ejemplo,

paisajes espacialmente heterogéneos que combinan lotes agrícolas con franjas de vegetación espontánea herbácea y leñosa permanente son capaces de albergar una mayor biodiversidad que paisajes más homogéneos, donde la agricultura es la actividad predominante (Tscharntke et al. 2005). A su vez, la presencia de vegetación perenne en los márgenes sin cultivar puede modificar el ciclado del carbono mediante cambios en la calidad y cantidad de la hojarasca, en el microambiente en el que ocurre este proceso, en la biomasa de descomponedores y en la cantidad de carbono translocado por debajo del suelo (Kuzyakov y Domanski 2000, Liao y Boutton 2008, Castro et al. 2010). Estudios en paisajes europeos detectaron áreas de mayor acumulación de carbono en el suelo que revelaban la huella de antiguos setos desaparecidos (construidas en torno a los 800 AC) que dividían las fincas (Walter et al. 2003, Follain et al. 2007). De la misma manera, un sistema agroforestal europeo presentó una correlación positiva entre la presencia de árboles y la acumulación de carbono en los primeros metros de interfase con el pastizal circundante (Simón et al. 2013). Dentro de los lotes agrícolas, diferentes secuencias de cultivos, su fenología y su disposición espacial, así como las técnicas de labranza y los niveles de fertilización, también son una fuente de variación espacial y temporal de los factores que influyen en el microambiente edáfico, la composición de su biota y la dinámica del carbono (Bardgett y McAlister 1999, Bardgett y Shine 1999, Zak et al. 2003, Knorr et al. 2005, Davidson y Janssens 2006, Alvarez y Steinbach 2009, Luo et al. 2010). Algunos de los mecanismos subyacentes a estos cambios son la variación de la cantidad y calidad del residuo vegetal, del pH del suelo y de la disponibilidad de nutrientes, que incluso pueden variar a escalas espaciales muy pequeñas (Lauber et al. 2008). A su vez, especies anuales (cultivos) y perennes (pasturas) presentan diferentes patrones de traslocación del carbono asimilado por la parte aérea de la planta hacia el suelo (20-30% y 30-50%, respectivamente) (Kuzyakov y Domanski 2000).

La mayor parte de la evidencia respecto de los efectos de la heterogeneidad del paisaje sobre la biodiversidad proviene de Europa occidental. En los paisajes europeos, los hábitats lineales no cultivados representan entre el 7 al 15% del paisaje dependiendo de la actividad productiva de la zona, mientras que en la Pampa Ondulada la superficie no cultivada representa entre el 1 y 2% del paisaje (Baudry et al. 2000, Aviron et al. 2005, Poggio et al. 2010). El diseño de esquemas agroambientales en los paisajes europeos implicó la conservación de franjas leñosas y herbáceas no cultivadas dentro de la matriz agrícola, como fuente de recursos y hábitat, para revertir la tendencia decreciente en la biodiversidad. En estos sistemas, la relación entre la heterogeneidad del paisaje y los organismos ha sido demostrada principalmente para poblaciones que habitan por encima del suelo (Blitzer et al. 2012). Por el contrario, los organismos del suelo y los procesos biogeoquímicos en los que participan no han sido considerados en igual medida (Bardgett 2005). La evidencia empírica disponible acerca de efecto de la existencia de franjas de

vegetación no cultivada sobre estos organismos revela que algunos grupos pueden ser afectados negativamente (nematodos y microartrópodos) mientras que otros pueden ser beneficiados (hongos) (González y Chaneton 2002, Rantalainen et al. 2004, 2006). Estos efectos suelen estar mediados por la dispersión en el paisaje asociada con las especies vegetales (Rantalainen et al. 2006), o por los organismos de mayor talla que funcionan como vectores. Sin embargo, puede ocurrir que los organismos del suelo, debido a su capacidad de sobrevivir en un espacio pequeño, temporal y espacialmente heterogéneo, y a sus hábitos de consumo generalistas, sean indiferentes a la fragmentación del hábitat (Ettema y Wardle 2002, Rantalainen et al. 2006, 2008). Más aún, a pesar de que la fragmentación tenga un efecto negativo sobre la comunidad de descomponedores, esto no siempre se traduce en cambios en las tasas de descomposición y de circulación de nutrientes. Esto se debe a la complementariedad de los distintos grupos de organismos que realizan las mismas funciones. Esta noción se conoce como redundancia funcional de la fauna (Liiri et al. 2002) y de la comunidad microbiana del suelo (Degens 1998, Griffiths et al. 2001) y frecuentemente enmascara la existencia de respuestas a nivel estructural.

En la región pampeana desconocemos cual es el impacto de la vegetación no cultivada de los márgenes sobre el carbono, y otras propiedades del suelo relacionadas, como la descomposición de la hojarasca y los organismos descomponedores. También desconocemos lo que sucede en la interfase entre esos ambientes no cultivados y los lotes vecinos. Con esta tesis doctoral procuro incorporar el comportamiento de la biota edáfica al conocimiento que ya tenemos acerca de los efectos de la intensificación de la agricultura sobre los agroecosistemas. Este nuevo conocimiento aumentará nuestra comprensión de procesos centrales como el ciclado de nutrientes (Wardle 2002) y el crecimiento de las plantas (Pimentel et al. 1992).

### **1.1.1 El caso de la Pampa Ondulada**

Durante los últimos años la Pampa Ondulada ha atravesado un proceso de intensificación de la agricultura similar a los descriptos más arriba para otros lugares del mundo (Ghersa et al. 2002, Viglizzo et al. 2011). Durante el siglo XX, el paisaje pampeano combinaba proporciones aproximadamente equivalentes de cultivos anuales y perennes. Hacia fines del siglo XX y principios del XXI, la intensificación productiva alteró la heterogeneidad del paisaje con la expansión agrícola. En la actualidad el paisaje presenta un mosaico casi exclusivamente de cultivos anuales solo interrumpido franjas de vegetación leñosa o herbácea, caminos y cursos de agua que ocupan menos del 5% de la superficie (Ghersa et al. 2002, Paruelo et al. 2005). Una superficie muy limitada se utiliza para el engorde de ganado vacuno (Fernández et al. 2011). Los cultivos anuales más importantes en el área de estudio son la soja, el trigo y el maíz. El doble cultivo (i.e. secuencia de cultivo de una

especie invernal seguido de otra estival sin período de descanso entre ellos) más difundido ha sido trigo-soja. Otras especies invernales como cebada, colza y arveja se utilizan como alternativas, pero en menor proporción (Satorre 2005). A su vez, la alta efectividad en el control de las malezas asociada a la adopción masiva de variedades transgénicas resistentes a herbicidas totales ha transformado al cultivo de soja en una de las principales causas de la pérdida de biodiversidad de estos agroecosistemas (de la Fuente et al. 2006, de la Fuente y Suárez 2008). La intensificación de la agricultura en detrimento de los cultivos forrajeros perennes, la uniformización del manejo agronómico mediante la siembra directa, el uso de mayores volúmenes de plaguicidas y fertilizantes, y el aprovechamiento productivo de los márgenes y banquinas ha modificado el hábitat de las poblaciones locales de plantas y animales, y disminuyeron la heterogeneidad del paisaje (de la Fuente y Suárez 2008, Viglizzo et al. 2011)

La evidencia empírica sugiere que los márgenes sin cultivar, que sabemos juegan un papel importante sobre las comunidades de plantas y animales en los paisajes europeos (ver arriba) también lo hacen en esta región. Más allá de las grandes diferencias estructurales y funcionales entre la Pampa Ondulada y los paisajes agrícolas europeos que incluyen una mayor proporción de márgenes no cultivados en el paisaje que los primeros (Baudry et al. 2000, Aviron et al. 2005). En esos sistemas la reducción en la proporción de los márgenes ha provocado respuestas consistentemente negativas sobre, por ejemplo, la diversidad de artrópodos (Burel et al. 1998). En la Pampa Ondulada, estudios realizados a escalas espaciales detalladas revelaron la existencia de comunidades de malezas más diversas (Poggio et al. 2010, 2013) y una mayor abundancia de pequeños mamíferos (Bilenca et al. 2007) en los márgenes herbáceos sin cultivar con respecto a sus campos cultivados vecinos. A su vez, se observó que la riqueza de malezas disminuye gradualmente con el aumento de la distancia respecto de los márgenes no cultivados (Poggio et al. 2010). Esto sugiere que los márgenes en la Pampa Ondulada, a pesar de su proporción limitada en el paisaje, actuarían como fuente de información y propágulos hacia la matriz cultivada (es decir, como fuente de especies y procesos en los que participan que están contenido en el margen y se encuentra degradado en el lote agrícola), mientras que ésta actuaría como sumidero. Con respecto al carbono y las comunidades del suelo en estos ambientes, podría esperarse un patrón similar al descripto para la porción aérea del sistema.

## 1.2 Objetivo general

El **objetivo general** de esta tesis es comprender cómo la heterogeneidad espacial y temporal de un agroecosistema, dada por la presencia de elementos no cultivados en el paisaje y por diferentes secuencias de cultivos, afecta el contenido de carbono de la capa superficial de suelo, la tasa de descomposición de la hojarasca y la biota edáfica asociada con este proceso.

### 1.2.1 Objetivos específicos

Esta tesis propone,

- (i) Analizar las diferencias en los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica y la tasa de descomposición entre distintos tipos de márgenes no cultivados dominados por vegetación perenne (herbácea y leñosa) y los lotes agrícolas.
- (ii) Analizar las diferencias en la diversidad, estructura y funcionamiento de la biota edáfica entre sitios agrícolas con variabilidad temporal en los cultivos (diferentes secuencias) y sitios sin variabilidad temporal en los cultivos (monocultivo).
- (iii) Analizar los efectos de la presencia de distintos tipos de márgenes no cultivados sobre el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la tasa de descomposición de la hojarasca y la biota edáfica de los lotes cultivados aledaños.

Para cumplir con los objetivos se realizaron experimentos en el campo en dos escalas espaciales: una involucró tres paisajes con similares características e historia de uso y ubicados a lo largo de una transecta de 100 km (objetivos i y ii), mientras que el objetivo (iii) se desarrolló solamente en uno de los tres paisajes. Además, se realizaron experimentos en invernáculo bajo condiciones controladas que complementaron parte del trabajo a campo de cada uno de los objetivos (i, ii y iii).

## 1.3 Hipótesis general

La composición del mosaico agrícola (lotes agrícolas y márgenes no cultivados) y la secuencia de diferentes cultivos dentro de los lotes agrícolas aportan heterogeneidad espacial y temporal en el paisaje, y afectan el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la descomposición de la hojarasca y la biota edáfica.



### 1.3.1 Hipótesis y predicciones específicas

- (i) La presencia de elementos en el paisaje agrícola pampeano con diferente tipo de vegetación (márgenes no cultivados y lotes agrícolas) afecta el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, a la biota edáfica, la descomposición de la hojarasca y la respiración del suelo al promover la heterogeneidad en la cantidad y calidad de la hojarasca, y en el microambiente edáfico. *Predicción: Los hábitats no cultivados (márgenes) presentarán una mayor acumulación de hojarasca, mayores contenidos de carbono en la capa superficial del suelo (total y lábil) y mayor diversidad funcional de su biota edáfica que los lotes agrícolas. el mayor contenido de carbono de los márgenes con vegetación leñosa será debido a la presencia de hojarasca más recalcitrante, menor temperatura y menores tasas de descomposición y respiración del suelo. En cambio, los márgenes con vegetación herbácea mostrarán valores intermedios entre los márgenes leñosos y los lotes agrícolas.*
  
- (ii) La siembra de diferentes secuencias de cultivos genera heterogeneidad en el suelo y modifica sus condiciones debido a diferencias en la calidad y cantidad de la hojarasca producida, y en las condiciones del ambiente edáfico (contenido hídrico o pH del suelo). *Predicción: la identidad de los cultivos incluidos en el primer año de la secuencia dejará una huella en el suelo que podrá ser detectada por la composición y diversidad funcional de la biota edáfica del suelo, incluso luego de un ciclo de manejo agrícola homogéneo. A su vez, los suelos provenientes de lotes agrícolas bajo diferente secuencia de cultivos mostrarán diferencias en sus tasas de descomposición y respiración de suelo, principalmente producto de cambios en la cantidad y calidad de la hojarasca que recibieron, y de cambios en las condiciones del ambiente físico.*
  
- (iii) Los márgenes herbáceos y leñosos contrastan estructural y funcionalmente con los lotes agrícolas vecinos y determinan procesos complejos de influencia de unos sobre otros. *Predicción: Los márgenes que presenten un mayor contraste estructural y funcional con sus lotes agrícolas vecinos tendrán una mayor influencia sobre estos últimos que se reflejará en el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, y en la estructura y*

*funcionamiento de la biota edáfica a lo largo de la interfase margen-cultivo. A su vez, el efecto disminuirá a distancias crecientes del margen.*

#### **1.4 Esquema de la tesis**

Esta tesis fue organizada en cinco capítulos. En el primer capítulo introductorio se brindó el marco conceptual elaborado a la luz de los antecedentes y se identificaron los vacíos de conocimiento sobre los que se plantearon los objetivos y las hipótesis puestas a prueba en el resto de la tesis. El segundo capítulo contiene las hipótesis, experimentos y resultados referidos al objetivo específico (i), que propone caracterizar la heterogeneidad espacial de la Pampa Ondulada mediante el estudio del contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica y la descomposición de la hojarasca en los márgenes no cultivados y en los lotes agrícolas. El tercer capítulo hace referencia al objetivo (ii), cuyo fin es evaluar la heterogeneidad temporal mediante el estudio de diferentes secuencias de cultivos y su impacto sobre la diversidad, estructura y funcionamiento de la biota edáfica y la descomposición de la hojarasca en suelos provenientes de lotes agrícolas. En este capítulo el trabajo experimental y los muestreos se realizaron aprovechando el diseño experimental e información adicional de la tesis doctoral en curso del Ingeniero Agrónomo José Andrade del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, UBA (ver detalles en el capítulo). El cuarto capítulo aborda el objetivo (iii) y estudia la influencia de los márgenes no cultivados sobre los lotes agrícolas vecinos en cuanto a los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica y la descomposición de la hojarasca en las interfases entre estos ambientes. Cada uno de los tres capítulos de resultados está organizado con una breve introducción, la metodología detallada para cumplir con cada objetivo específico, los resultados encontrados, su discusión en el contexto del conocimiento actual y las conclusiones que derivan de ellos. El último y quinto capítulo, en cambio, contiene una discusión general que integra los resultados de los distintos capítulos y destaca la relevancia de los resultados aportados por la tesis en el contexto de la hipótesis general y su efectividad para completar los vacíos de conocimiento identificados en el capítulo introductorio. A su vez, este último capítulo plantea algunas proyecciones tanto en materia de investigación como de manejo de estos sistemas.

## CAPÍTULO 2

---

### EFFECTOS DE LA HETEROGENEIDAD ESPACIAL DEL AGROECOSISTEMA PAMPEANO SOBRE LOS RESERVORIOS DE CARBONO, LA BIOTA EDÁFICA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA

#### 2.1 Introducción

Las concepciones más modernas que perciben la compatibilidad entre el uso productivo de los ecosistemas y la conservación de los servicios que estos proveen ponen de manifiesto la importancia de identificar usos complementarios de la tierra y su diseño a escala de paisaje (Schroth et al. 2004). El paisaje agrícola actual ofrece esa posibilidad al coexistir elementos de origen natural (parches sin cultivar, márgenes) y antrópico (lotes de cultivo) que aportan heterogeneidad espacial al sistema (Bennett et al. 2006) y ofrecen una variedad de hábitats para especies animales y vegetales (Forman 1995).

Como se señaló en el capítulo introductorio, la intensificación de la agricultura ha llevado a la degradación de ciertos servicios ecosistémicos dentro de los lotes agrícolas, como por ejemplo el ciclado de carbono y nutrientes minerales (Daily 1997). El abastecimiento de nutrientes a los cultivos, que originalmente ocurría exclusivamente a partir del reciclaje de los residuos vegetales producidos en el propio ecosistema, fue crecientemente complementado con el agregado de fertilizantes inorgánicos (Matson et al. 1997). Este cambio fue acompañado de una reducción del contenido de materia orgánica y de la actividad biológica del suelo de los lotes agrícolas (Matson et al. 1997). Es por ello que, en un diseño paisajístico orientado al desarrollo de agroecosistemas sostenibles, la presencia de parches de vegetación sin cultivar podría eventualmente constituir focos de conservación de servicios y funciones del sistema inmersos en una matriz agrícola destinada fundamentalmente al abastecimiento de servicios de provisión de bienes.

En los agroecosistemas el ciclo del carbono es afectado en gran medida por el manejo de los cultivos (lote) y el contexto paisajístico (mosaico agrícola). A escala de lote, el almacenamiento de carbono es fundamental para la agricultura por su papel en el mantenimiento de la fertilidad física y química del suelo (Zhang et al. 2008) y su impacto sobre la productividad primaria. En la agricultura de secano, la secuencia de cultivos, su diversidad genética, las técnicas de labranza, los niveles de fertilización y el control de plagas son los reguladores más importantes manejados por el hombre de la productividad primaria, de la fracción apropiada por el hombre y la cantidad y calidad de los residuos que

se incorporan y descomponen en el suelo (Follett 2001). Dentro de los factores que afectan la descomposición de los residuos, su calidad, es uno de los factores más importantes. Más aún, características como el contenido total de nutrientes, la relación C/N y el contenido de lignina de los tejidos son los reguladores directos con mayor impacto sobre la descomposición (Zhang et al. 2008). A su vez, las prácticas agrícolas ejercen un control indirecto sobre la formación de materia orgánica del suelo mediante la modificación de la temperatura, la aireación y la humedad del suelo (Knorr et al. 2005, Davidson y Janssens 2006, Alvarez y Steinbach 2009, Luo et al. 2010). Las características de los elementos que componen el mosaico agrícola también puede afectar el ciclado de carbono. Por ejemplo, la presencia de áreas sin cultivar dentro del mosaico agrícola (los márgenes) puede jugar un papel crítico en mitigar procesos de pérdida de suelo y erosión (Gregorich et al. 1998, Okin et al. 2006). Además, los árboles y la vegetación herbácea perenne modifican el microambiente de descomposición y acumulación de carbono mediante cambios en la calidad y cantidad de la hojarasca que se descompone en el suelo, en el ambiente edáfico y a través del aporte de sus raíces (Liao et al. 2008, Castro et al. 2010). En el caso de los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo en la Pampa Ondulada, no tenemos evidencias a escala de paisaje sobre el papel potencial que estos parches de vegetación sin cultivar (márgenes) podrían tener sobre sus propios contenidos de carbono y sobre la biota edáfica asociada a su ciclado.

La heterogeneidad del paisaje, al promover heterogeneidad en la distribución de los recursos, podría eventualmente redundar en la heterogeneidad de la biota edáfica. Tanto en paisajes con larga historia de uso (los europeos) como en los más cortamente antropizados como los de la región Pampeana, la relación entre la heterogeneidad del paisaje y la biodiversidad ha sido estudiada fundamentalmente para organismos que habitan por encima del suelo (Blitzer et al. 2012). El impacto sobre las comunidades que habitan por debajo del suelo ha sido menos estudiado, a pesar de su relevante participación en procesos como la descomposición y el ciclado de nutrientes. Los efectos de la heterogeneidad del paisaje sobre la biota edáfica no serían tan predecibles a partir de los efectos sobre las comunidades que habitan por encima del suelo, debido a sus hábitos de consumo generalistas y a la capacidad de sobrevivir en un espacio pequeño (Ettema y Wardle 2002). Los conocimientos actuales sobre la diversidad subterránea sugieren que existen numerosos factores que operan, a distintas escalas, y afectan a las comunidades microbianas del suelo y, por ende, a los procesos ecológicos en los que participan (Ettema y Wardle 2002, Fierer y Jackson 2006, Lauber et al. 2008, 2009, Fierer et al. 2009). Por ejemplo, el carbono orgánico que se incorpora al suelo con la hojarasca es uno de los componentes de la materia orgánica del suelo y la fuente de energía de su comunidad microbiana heterotrófica (Bardgett 2005). La estrecha relación entre el carbono del suelo y la biota edáfica, sus características metabólicas, su diversidad, y su velocidad para reflejar cambios en el uso del

suelo (Bending et al. 2000), convierte a estos organismos en buenos indicadores de los servicios ecosistémicos de soporte y reciclaje de residuos (Dale y Polasky 2007). La comunidad microbiana del suelo descompone los residuos y libera los nutrientes minerales en formas asimilables por las plantas. Por lo tanto, el mantenimiento de altos niveles de residuos vegetales en el suelo aseguraría la fertilidad edáfica y la producción de los cultivos. En el caso de los microorganismos asociados a la mineralización de la materia orgánica, su actividad y estructura varía tanto como respuesta a los distintos usos de la tierra (Álvarez y Álvarez 2000, Gómez et al. 2004, Gómez y Garland 2012) como a los cambios en la diversidad y biomasa vegetal (Bardgett y Shine 1999, Zak et al. 2003). Sin embargo, la forma en que estos microorganismos responden a los distintos tipos de vegetación cuando estos actúan como márgenes no ha sido evaluada hasta el momento. Teniendo en cuenta que la diversidad y actividad de la comunidad microbiana del suelo depende, entre otros factores, de la heterogeneidad de la fuente de alimento (residuos), es esperable que hábitats con mayor producción y diversidad de hojarasca (en su cantidad y calidad) resulten en suelos con una biota funcionalmente más diversa.

## 2.2 Objetivo

El objetivo de este capítulo es analizar las diferencias en los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica y la tasa de descomposición entre distintos tipos de márgenes no cultivados, dominados por vegetación perenne (herbácea y leñosa), y los lotes agrícolas dentro de un mosaico agrícola de la Pampa Ondulada. Se evaluó el papel de la descomposición como un mecanismo parcialmente responsable de los posibles efectos de los márgenes no cultivados sobre los contenidos de carbono del suelo. Para describir los elementos del paisaje que aportan heterogeneidad espacial se identificaron, a lo largo de una transecta de 100 km, parches de vegetación sin cultivar (márgenes herbáceos y leñosos con vegetación perenne) adyacentes a lotes cultivados con soja.

## 2.3 Hipótesis

La presencia de elementos en el paisaje agrícola pampeano con diferente tipo de vegetación (márgenes no cultivados y lotes agrícolas) afecta el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, a la biota edáfica, la descomposición de la hojarasca y la respiración del suelo al promover la heterogeneidad en la cantidad y calidad de la hojarasca, y en el microambiente edáfico. *Predicción: Los hábitats no cultivados (márgenes) presentarán una mayor acumulación de hojarasca, mayores contenidos de carbono en el suelo (total y lábil) y mayor diversidad funcional de su biota edáfica que los lotes agrícolas. Los márgenes con vegetación leñosa presentarán mayor acumulación de carbono debido a la presencia de*

*hojarasca más recalcitrante, menor temperatura y menores tasas de descomposición y respiración del suelo. En cambio, los márgenes con vegetación herbácea mostrarán valores intermedios entre los márgenes leñosos y los lotes agrícolas.*

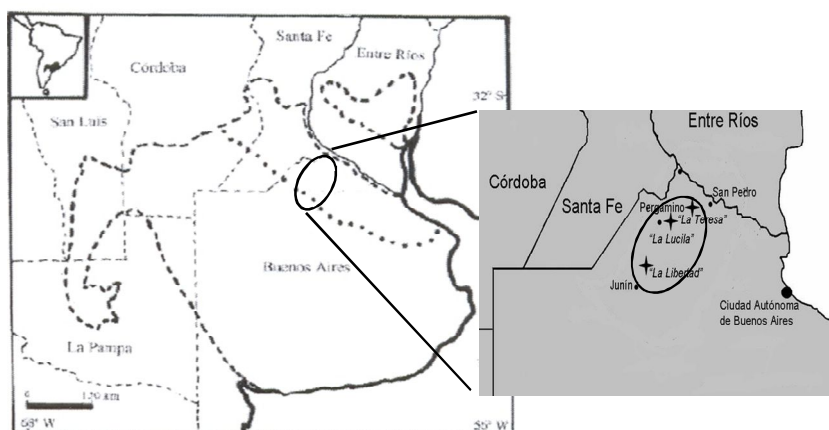
## **2.4 Materiales y métodos**

### **2.4.1 Descripción del sitio de estudio**

Este trabajo fue conducido en una de las subregiones de la Llanura Pampeana, La Pampa Ondulada (Soriano et al. 1991). Para el análisis se seleccionaron sitios de estudio similares en sus características originales y actividad agrícola predominante. Los sitios de estudio están ubicados al norte de la provincia de Buenos Aires (Figura 2.1) y están representados por campos ubicados a lo largo de un segmento de 100 km, en los partidos bonaerenses de Junín, Pergamino y San Pedro. La precipitación media anual es de 1030 mm (oscila entre 1562 y 592 mm). Si bien el régimen es isohigro las lluvias tienden a ser más abundantes en la primavera y el otoño y más escasas durante el invierno. Durante el verano es frecuente la ocurrencia de déficits hídricos marcados. La temperatura media anual es de 16.9 °C, con una media mensual que varía desde 9.8 °C en el mes más frío (julio) a 23.4 °C en el mes más cálido (enero). El período de heladas se extiende desde mediados de abril hasta fines de septiembre. Los suelos de la región son principalmente Argiudoles, caracterizados por presentar un horizonte sub-superficial de acumulación de arcillas (horizonte argílico) (Soriano et al. 1991). Son suelos muy productivos con nulas a escasas limitaciones y resultan aptos para la producción de cultivos de alto potencial de rendimiento. El estudio abarcó las series de suelos de Rojas, Pergamino y Ramallo (INTA, Carta de suelos). El relieve es suavemente ondulado, cruzado por cañadas, arroyos y ríos. Actualmente, la agricultura es el uso de la tierra predominante de la zona, restringiendo la ganadería a los suelos más bajos sin aptitud agrícola (Poggio et al. 2010). La Pampa Ondulada está incluida completamente en el Distrito Pampeano Oriental, de acuerdo a la clasificación fitogeográfica del territorio argentino (Cabrera 1949, 1968, 1994), que contiene, a su vez, al Distrito Pergaminense (Parodi 1930, 1947). La vegetación prístina que dominó este Distrito, denominada originalmente como pradera alta (Parodi 1930) y, más tarde como pseudoestepa de gramíneas (Cabrera 1949), fue eliminada casi totalmente por la intensificación de la agricultura (León et al. 1984).

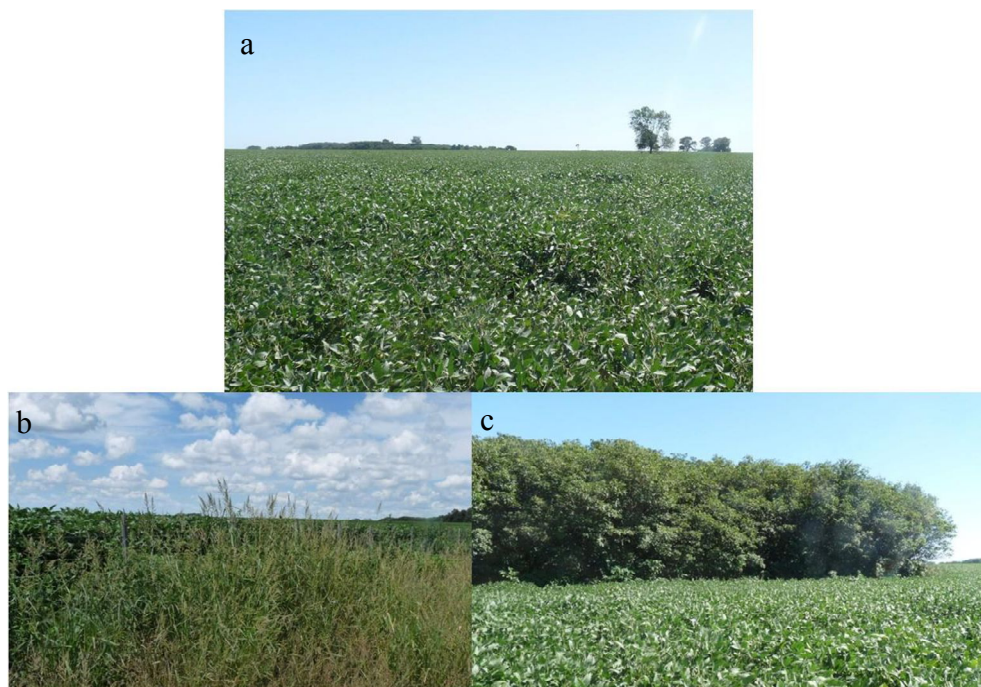
Se identificaron dos de los ambientes sin cultivar más representativos de la zona (Foto 2.1): (i) dominado por vegetación herbácea espontánea (margen herbáceo en adelante), y (ii) dominado por vegetación leñosa que es espontánea o bien pudo implantarse como parte de un puesto que posteriormente fue abandonado, y en general está dominado

por especies exóticas (margen leñoso en adelante). Estos ambientes representan entre 1% y 2% del paisaje (Ghersa et al. 2002). También se consideraron campos cultivados con soja (agrícola en adelante) que representan la situación dominante de la zona. Estos lotes tuvieron una superficie promedio de 50ha (de la Fuente et al. 2010). Los márgenes herbáceos estudiados están dominados en su gran mayoría por especies anuales y algunas perennes, si bien no están vegetados la mayor parte del año ya que son usualmente tratados con herbicidas (de la Fuente et al. 2006). Las especies de gramíneas más frecuentes encontradas en estos hábitats son *Cynodon dactylon*, *Digitaria sanguinalis*, *Lolium multiflorum*, *Poa annua* y *Paspalum dilatatum*. Entre las hierbas son frecuentes *Apium leptophyllum*, *Artemisia annua*, *Anthemis cotula*, *Bidens subalternans*, *Capsella bursa-pastoris*, *Chenopodium album*, *Hypochoeris radicata*, *Matricaria chamomilla*, *Portulaca oleracea*, *Silene gallica*, *Tagetes minuta* y *Trifolium repens*. Estos márgenes son ambientes lineales de entre 5 a 10 metros de ancho. Los márgenes leñosos cubren una superficie media de 1 hectárea, presentan una cobertura de forma permanente y las especies arbóreas más frecuentes del estrato superior son *Broussonetia papyrifera*, *Fraxinus spp.*, *Gleditsia triacanthos*, *Ligustrum sp.*, *Melia azedarach* y *Morus alba*. Estos márgenes también tienen un sotobosque herbáceo (*Ammi majus*, *Bromus catharticus*, *Chenopodium album* y *Tagetes minuta*). A diferencia de los márgenes herbáceos, los márgenes leñosos no se pulverizan directamente con herbicidas. Sin embargo, estos márgenes suelen recibir la deriva de la aplicación de los campos cultivados vecinos. Los lotes cultivados con soja se pulverizan con insecticidas sistémicos y de contacto durante la primavera y con un herbicida no selectivo (glifosato) para reducir la cobertura de malezas (Ferraro et al. 2003). Se cosechan durante la primera mitad del otoño por lo que el suelo permanece cubierto con los residuos de la cosecha anterior hasta la siguiente cosecha.



**Figura 2.1** Ubicación del área de estudio (óvalo) dentro de la Pampa Ondulada (línea de puntos) y de la región de pastizales del Río de la Plata (línea discontinua) (adaptado de Soriano et al. 1991), y sitios experimentales (línea continua). Las cruces señalan los tres establecimientos en donde se

realizaron las mediciones de este capítulo y los experimentos de las secuencia de cultivos (capítulo 3) (adaptado de Andrade 2012).



**Foto 2.1** Fotos de lotes agrícolas (a) y de los dos ambientes sin cultivar más representativos de la Pampa Ondulada cubiertos con vegetación perenne herbácea (b) y leñosa (c). Estos tres tipos de parche fueron ubicados a lo largo de una transecta de 100 km que abarcó tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino y San Pedro).







#### 2.4.2 Descripción de los estudios realizados

Para cumplir con el objetivo propuesto, en una primera instancia, se seleccionaron lotes cultivados con soja y parches de vegetación sin cultivar (márgenes) dominados por vegetación espontánea herbácea y leñosa respectivamente. Los sitios se ubicaron en tres localidades de la provincia de Buenos Aires dentro de la Pampa Ondulada: Junín (estancia La Libertad), Pergamino (estancia La Lucila) y San Pedro (estancia La Teresa) (Figura 2.1). Dentro de cada localidad se consideraron 5 repeticiones para cada uno de los ambientes no cultivados (márgenes leñosos y herbáceos) y 2 repeticiones para los ambientes cultivados representados por lotes agrícolas sembrados con soja por su dominancia en la región de estudio (Andrade, tesis doctoral). Es decir, cada localidad contó con 5 ambientes no cultivados leñosos, 5 ambientes no cultivados herbáceos y 2 lotes agrícolas (soja). En estos sitios se estimaron cantidad de hojarasca, contenidos de carbono total y lábil y nitrógeno total del suelo, pH del suelo, perfil catabólico y diversidad funcional de los microorganismos del suelo, y bajo condiciones controladas de invernáculo, tasas de descomposición (hojarasca de soja y trigo) y respiración del suelo (Cuadro 2.1).



En una instancia independiente, solo en los sitios de muestreo ubicados en la localidad de Pergamino, se estimó la biomasa aérea, tasa de descomposición de la hojarasca a campo (hojarasca propia del margen y sustratos estándares, soja y maíz), temperatura, humedad y calidad de la hojarasca. Estas mediciones se realizaron en 5 lotes cultivados con soja, 5 márgenes herbáceos y 5 márgenes leñosos. Estos sitios de muestreo en la localidad de Pergamino coinciden con los seleccionados en la instancia anterior (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1** Localidades, aproximaciones utilizadas y momentos de muestreo para la estimación de las variables bajo estudio en los márgenes sin cultivar con vegetación permanente herbáceas o leñosa y los lotes de soja.

Localidad	Experimento a campo	Experimento en condiciones controladas	Momento de muestreo
Junín	Cantidad de hojarasca	Tasas de descomposición (hojarasca de soja y trigo) y respiración del suelo	Post cosecha de soja (abril)
Pergamino	Carbono total y lábil, y nitrógeno total del suelo,		
San Pedro	pH del suelo		
 Leñoso  Herbáceo  Agrícola	Perfil catabólico y diversidad funcional de los microorganismos del suelo		En primavera (octubre)
Pergamino	Biomasa aérea		Post cosecha de soja (abril)
 Leñoso  Herbáceo  Agrícola	Tasa de descomposición de la hojarasca (hojarasca propia del margen y sustratos estándares, soja y maíz),		
	Temperatura y humedad del suelo		
	Calidad de la hojarasca.		

### 2.4.3 Variables de respuesta

#### 2.4.3.1 Biomasa aérea, hojarasca y variables del suelo

La *biomasa vegetal* aérea de los márgenes herbáceos y del sotobosque de los márgenes leñosos fue estimada a partir del corte de biomasa en pie a nivel del suelo en diez marcos de 0,4 x 0,4 m ubicados al azar dentro de los márgenes (Foto 2.2). Se cuantificó la biomasa aérea después de secarla hasta su peso constante (60°C durante 48 h). En los márgenes leñosos también se estimó la biomasa arbórea en 6 parcelas circulares de 14 m de diámetro cada una (Bechtold y Zarnoch 1999). En cada parcela se midió el diámetro a la altura del pecho de todos los individuos y se registró la especie de cada individuo (Foto 2.2). Para la estimación de la biomasa leñosa por unidad de superficie se utilizaron ecuaciones alométricas y empíricas basadas en el diámetro a la altura del pecho y la densidad de individuos (Toky y Bisht 1993, Dascanio et al. 1994, Jiang et al. 2008, Blujdea et al. 2012). La cantidad de hojarasca se determinó a partir de la recolección de los restos vegetales sobre la superficie del suelo, después de la cosecha del cultivo de soja, mediante seis marcos situados al azar de 0,4 x 0,4 m en cada tipo de margen y lote agrícola (Foto 2.2). Para cada sitio se tomaron cinco muestras de suelo a una profundidad de 15 cm en cada tipo de margen y lote agrícola (Foto 2.2). Se cuantificó el contenido de carbono orgánico total y lábil y el nitrógeno total. El carbono orgánico total y nitrógeno se determinaron mediante métodos de Walkley Black y Kjeldahl, respectivamente. El carbono lábil se determinó por el método de fraccionamiento densimétrico (Richter et al. 1975). Por último, se evaluaron otras variables del suelo como la temperatura y la humedad volumétrica registrada durante 48 horas, después de la cosecha de soja, en cada tipo de margen y en los lotes agrícolas con soja (n= 3). Como las mediciones de temperatura y humedad del suelo requieren de equipos específicos se tuvo que disminuir el número de repeticiones a tres según su disponibilidad. Se consideraron a las mediciones registradas entre las 8 pm y las 6 am como “noche” y al resto como “día”. Además, se estimó el contenido de humedad gravimétrico partir de la diferencia de peso húmedo y seco luego de 24 horas de secado en estufa a 100°C de una cantidad conocida de suelo húmedo, a partir de muestras tomadas al comienzo del experimento, a los 30 y a los 90 días. El pH del suelo se midió en laboratorio con un peachímetro electrónico en una solución agua:suelo 2,5:1.



**Foto 2.2** Muestreo de la vegetación aérea leñosa para la caracterización del rodal (a y b), recolección de suelo (c) y hojarasca (d) para experimentos en los sitios de estudio.

#### 2.4.3.2 *Microorganismos del suelo*

El muestreo de *microorganismos del suelo* se realizó a partir de cinco submuestras de suelo de los primeros 10 cm del perfil durante la primavera, en cada tipo de margen sin cultivar y dentro de los lotes de soja. Las muestras se conservaron en la heladera (4°C) hasta su determinación. Para cada muestra de suelo se estimó el perfil catabólico de los microorganismos del suelo mediante la metodología de perfiles de utilización de fuentes carbonadas (Garland y Mills 1991 adaptado por Di Salvo y García de Salamone 2012). Esta metodología permite caracterizar y clasificar comunidades de microorganismos a partir de la reducción del violeta de tetrazolio como indicador de la actividad catabólica registrada en incubaciones de suelo con distintas fuentes carbonadas. Se prepararon microplacas estériles con 17 fuentes carbonadas: amino ácidos (alanina, arginina, histidina y prolina), ácidos orgánicos (benzoico, salicílico y pirúvico), un ácido carboxílico (itacónico), carbohidratos (celobiosa, fructosa, dextrosa, lactosa, manitol, ramnosa y xylosa), un ácido graso (tween 80) y un alcohol (glicerol). A cada una de estas fuentes se le agregó 50 µl de medio basal inorgánico, 50 µl de violeta de tetrazolio, y se las inoculó, por duplicado, con 50 µl de inóculo de suelo (concentración  $10^{-3}$ ). Las microplacas inoculadas se incubaron en oscuridad a 25°C durante un máximo de 72 h y la actividad metabólica en cada fuente se

estimó a las 24, 48 y 72 h, mediante la determinación de la absorbancia a 590 nanómetros (espectrofotómetro Multiskan EX ®). Al valor de absorbancia de cada fuente se le restó el valor de un blanco por cada subplaca que contenía las fuentes carbonadas y los demás reactivos, pero que recibió el inóculo estéril (sin suelo) y esos valores se corrigieron, a su vez, por el valor de absorbancia promedio de cada placa.

#### 2.4.3.3 Tasas de descomposición y respiración del suelo

Se realizaron dos experimentos complementarios, a campo y bajo condiciones controladas en invernáculo, con el objetivo de estimar las tasas de descomposición de la hojarasca, y a la vez, aislar el efecto *in situ* del ambiente (humedad y temperatura) de otras propiedades acumuladas en el suelo, como el contenido de carbono y nitrógeno. El experimento a campo se realizó en márgenes y lotes de soja únicamente de la localidad de Pergamino, mientras que el experimento bajo condiciones controladas se realizó con material vegetal y muestras de suelo provenientes de los márgenes y de lotes de soja de las tres localidades.

Para el experimento a campo, se recolectó hojarasca senescente de cada tipo de margen (herbáceo y leñoso), de lotes agrícolas, y de lotes de soja y maíz, que fueron utilizados como sustratos estándares. En los márgenes herbáceos y leñosos se recolectaron hojas y tallos senescentes de la comunidad vegetal presente, mientras que en los lotes agrícolas, se recolectó solo hojas senescentes, cuando el cultivo fue maíz, y hojas y tallos senescentes, cuando el cultivo agrícola fue soja. A pesar de que la hojarasca del borde leñoso contiene cierta fracción de leño, en esta tesis se denominará hojarasca porque se trata del material aéreo que cae luego de la senescencia y para facilitar la comparación con los otros márgenes. La hojarasca recolectada fue cortada en trozos de 5 cm de largo aproximadamente con el objetivo de simular la acción de la macrofauna del suelo (Seastedt 1984). Se armaron bolsas de descomposición (de 15 x 15 cm para la hojarasca de los márgenes leñosos, y de 15 x 20 cm para el resto de la hojarasca, todas con 2 mm de malla de fibra de vidrio) conteniendo 3 g de hojarasca secada al aire para cada tipo de margen, lote agrícola y para los sustratos comunes. Para los márgenes leñosos, cuya hojarasca es más pesada que el resto, se utilizaron 5 g. En estos márgenes se incluyó de la fracción leñosa aquellos tallos que no superaban el centímetro de diámetro. La hojarasca de maíz y soja utilizada como sustratos comunes fue recolectada en lotes cultivados dentro del área de estudio, pero diferentes a los utilizados como lotes agrícolas (lotes que representan la situación dominante de la zona).

Previo al inicio del experimento se midieron variables que determinan la calidad de hojarasca y afectan la tasa de descomposición. El contenido de carbono y de nitrógeno inicial de la hojarasca se determinó por combustión seca (LECO Corporation) y los

compuestos solubles, hemicelulosas y la concentración de lignina se determinaron mediante extracciones sucesivas con detergente ácido (Van Soest 1963, Van Soest et al. 1991).

En el experimento a campo, luego de la cosecha de soja (abril), se ubicaron bolsas (n=5) correspondientes a cada tipo de hojarasca (margen, soja y maíz) en cada uno de los dos márgenes sin cultivar y de lotes agrícolas (margen herbáceo, margen leñoso y lote agrícola). Previa a la instalación de las bolsas, con el objetivo de maximizar su contacto con el suelo, removimos manualmente los residuos de cosecha del cultivo de soja. Las bolsas fueron fijadas al suelo con estacas de alambre y cubiertas con el residuo de cultivo removido (Foto 2.3). Se recolectaron cuatro bolsas de cada tipo de hojarasca, de cada sitio de estudio, a los 30 y 90 días de incubación y se analizaron para estimar la pérdida de masa en el tiempo (tasa de descomposición). Además, se determinó el contenido de cenizas para estimar la contaminación con partículas de suelo (Harmon et al. 1999). La pérdida de masa en el tiempo fue estimada a partir de un modelo exponencial decreciente simple,  $\ln(Mt/Mo) = -kt$ , donde  $Mo$  es el peso seco inicial sin cenizas,  $Mt$  es el peso seco inicial sin cenizas en el tiempo  $t$  y  $k$  es la constante de descomposición (Swift et al. 1979). Debido a que la tasa de descomposición se estimó a partir del material remanente a lo largo del período de incubación, se cuantificó la pérdida de material de las bolsas producto del manipuleo usando 5 bolsas adicionales para cada tipo de hojarasca sometidas al mismo procedimiento que aquellas bolsas puestas a incubar, pero que fueron inmediatamente removidas y procesadas en el laboratorio. Luego esta información se utilizó para corregir las tasas de descomposición estimadas.





**Foto 2.3** Bolsas de descomposición de hojarasca de márgenes, lotes agrícolas y estándares (soja y maíz) ubicadas en los micrositios de estudio a campo en la localidad de Pergamino: lotes agrícolas (a), márgenes herbáceos (b) y márgenes leñosos (c).

Finalmente, se realizó un experimento de descomposición complementario en condiciones controladas de invernáculo. El objetivo de este experimento fue aislar las condiciones in situ para la descomposición de la hojarasca mediadas por diferencias microclimáticas en el campo de las propiedades acumuladas en el suelo. Para ello se pusieron a descomponer dos sustratos estándares: soja, al igual que en los experimentos de descomposición a campo, y trigo. El diseño fue un factorial con el tipo de parche en cada una de las tres localidades (margen herbáceo, margen leñoso y lote agrícola) y dos fecha de cosecha (30 y 90 días después de incubación) ( $n=5$ ). La hojarasca de soja y trigo fue recolectada en la zona de estudio luego de la cosecha de cada cultivo. Los suelos de cada tipo de margen y de los lotes agrícolas fueron recolectados de las mismas unidades experimentales a campo y se colocaron en bandejas individuales de 20 cm x 15 cm y 5 cm de altura. En cada bandeja se colocó una bolsa con 1 g de hojarasca de soja y otra bolsa con 1 g de hojarasca de trigo ( $n=5$ ). Las bolsas se cubrieron con 1 cm de tierra y se presionaron suavemente para mejorar el contacto suelo-hojarasca. Cada bandeja con su bolsa de descomposición fue asignada aleatoriamente dentro del invernáculo y se incubaron a 25°C durante un período máximo de 90 días. Se recogieron cinco bolsas de cada tipo de hojarasca de cada tratamiento (suelos de los dos tipos de márgenes y de los lotes agrícolas), después de 30 y 90 días de incubación, y se analizaron para estimar la pérdida de masa en el tiempo, como se describió anteriormente para el experimento a campo. El contenido gravimétrico de humedad del suelo se mantuvo constante mediante la adición de agua destilada durante todo el experimento con una evaluación diaria en la cual se tomó una alícuota de suelo, se pesó en húmedo y luego del secado en estufa a 100°C por 48 horas. La determinación del contenido de cenizas, las correcciones para las estimar las pérdidas debidas a la manipulación de las bolsas de descomposición, y la estimación de las tasas de descomposición se determinaron como se describió anteriormente. La tasa de respiración del suelo fue estimada utilizando un respirómetro portátil (PPSystems, SRC-1, Soil CO<sub>2</sub> flux System, UK). La respiración se estimó en las bandejas que habían contenido hojarasca de soja, una vez recolectada la bolsa de hojarasca, a los 30, 60 y 90 días desde su incubación y luego de 48 horas de incubación en oscuridad.

#### **2.4.4 Análisis estadísticos**

Las variables estudiadas en las tres localidades (cantidad de hojarasca, contenido de carbono total y lábil y nitrógeno total del suelo, pH del suelo, tasa de descomposición y

respiración del suelo en invernáculo, y diversidad funcional de los microorganismos del suelo) en una primera instancia fueron analizadas bajo un diseño anidado (debido a que las variables se encuentran anidadas dentro del factor localidad). Finalmente, como el factor localidad no tuvo efecto significativo sobre las variables analizadas se realizó un promedio para cada localidad y los datos fueron analizados mediante un ANOVA con tres repeticiones por tipo de parche (margen herbáceo, margen leñoso, cultivo de soja). Cuando se encontraron efectos significativos, las medias fueron comparadas con la prueba LSD Fisher.

Los datos de respiración del suelo fueron analizados en un diseño factorial considerando como fuentes de variación el tipo de parche de origen (márgenes no cultivados herbáceos, leñosos y lotes agrícolas), el periodo de incubación (30, 60 y 90 días) y su interacción.

Los perfiles catabólicos de los suelos de los tipos de márgenes y lotes agrícolas se analizaron mediante un PCA y se comparó la posición de cada uno de ellos sobre el primer eje del PCA por medio de un ANOVA (Semmartin et al. 2010). Para evitar eventuales diferencias en los patrones observados asociadas a cantidades de inóculo variables entre tratamientos, los datos de absorbancia obtenidos fueron previamente estandarizados. Se calculó la diversidad funcional mediante el índice de Shannon-Weaver (H) que combina la riqueza y uniformidad en la distribución de la actividad metabólica. Brevemente, este índice se calcula como la sumatoria del producto de la densidad óptica registrada en cada sustrato en la placa y su propio logaritmo para las 17 fuentes utilizadas. Se utilizó una densidad óptica de 0,25 como umbral de respuesta positiva, y por lo tanto contabilizada, en el cálculo de diversidad (Garland 1997). Comparamos la diversidad funcional (índice de Shannon-Weaver) entre los tipos de márgenes y lotes agrícolas por medio de un ANOVA de una vía cuyos tres niveles del factor tipo de parche fueron herbáceo, leñoso y lotes agrícolas. Se relacionó la diversidad funcional de los microorganismos y el primer eje del ordenamiento del PCA con el pH del suelo, el contenido de carbono total y lábil, nitrógeno total y cantidad de hojarasca mediante un análisis de regresión.

Las variables estudiadas únicamente en la localidad de Pergamino (biomasa aérea, tasa de descomposición de la hojarasca a campo y calidad de la hojarasca) fueron analizadas mediante un ANOVA de una vía entre los tres tipos de parche (margen herbáceo, margen leñoso y lote agrícola). Cuando se encontraron efectos significativos se compararon las medias con la prueba LSD Fisher. La temperatura y la humedad volumétrica se analizaron en un diseño factorial considerando como fuente de variación el tipo de parche, el momento del día (día o noche) y su interacción. Por último, relacionamos la calidad de la hojarasca propia de cada tipo de parche con su tasa de descomposición y con variables del suelo mediante un análisis de regresión lineal.



## 2.5 Resultados

El muestreo a lo largo de la transecta de 100 km que abarcó tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino, San Pedro) no mostró un efecto del factor localidad para ninguna de las variables estudiadas (Cuadro 2.2). En cambio, se encontró un efecto significativo del factor tipo de parche (márgenes herbáceos, márgenes leñosos y los lotes agrícolas) en la mayoría de las variables estudiadas (Cuadro 2.2).

La vegetación de los tres tipos de parche presentó diferencias en su biomasa aérea y en la cantidad de hojarasca. La biomasa vegetal de los márgenes leñosos fue 47 y 23 veces mayores que la biomasa de los márgenes herbáceos y los lotes agrícolas, respectivamente. La cantidad de hojarasca fue significativamente inferior en los lotes los márgenes herbáceos con respecto a los lotes agrícolas y márgenes leñosos (Cuadro 2.3).

Tanto el carbono total como el de la fracción lábil del suelo de los márgenes leñosos fueron un 50 y 100% superiores, respectivamente a los registrados en los márgenes herbáceos y en los lotes agrícolas (Figura 2.2). Los suelos de los márgenes herbáceos no se diferenciaron de los lotes agrícolas en el contenido de carbono total ni en el carbono lábil ( $p > 0,05$ ).

**Cuadro 2.2** Resultados del ANOVA (valores de F) del diseño anidado para las variables estimadas en tres tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) a lo largo de una transecta de 100 km que abarcó tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino y San Pedro).

Variables	Fuentes de variación	
	Localidad	Localidad > Tipo de parche
Carbono total suelo (%)	0,08	1,81**
Carbono lábil suelo (%)	0,32	3,47**
Nitrógeno total suelo (%)	0,56	3,04*
pH suelo	1,92	6,72***
Respiración suelo 30 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	0,10	3,11*
Respiración suelo 60 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	1,69	1,11
Respiración suelo 90 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	1,11	0,64
Diversidad microbiana (Índice de Shannon-Weaver)	0,57	5,44**
Hojarasca (g/m <sup>2</sup> )	1,14	59,69***
<i>k</i> soja	0,34	1,67
<i>k</i> trigo	0,07	1,98*

Los grados de libertad del anidado (Localidad > Tipo de parche) y del error fueron 6 y 18, respectivamente.

\*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$

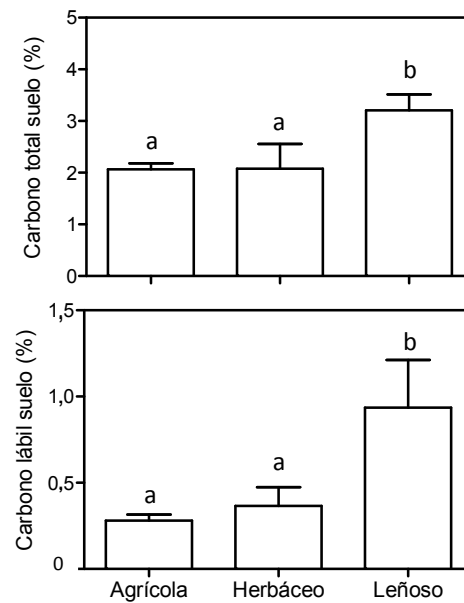
**Cuadro 2.3** Descripción de la vegetación y la cantidad de hojarasca en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Los datos representan los valores medios con el error estándar entre paréntesis (n=5). Las diferentes letras indican diferencias entre los tipos de parche.

	Tipo de parche		
	Agrícola	Herbáceo	Leñoso
<i>Planta</i>			
	Anual (cultivo+malezas)	Anual/perenne pastos	Leñoso caducifolio/perennifolio y sotobosque herbáceo
Forma de crecimiento			
Biomasa aérea (g/ m <sup>2</sup> )***	448,3 <sup>a</sup> (20,9)	220,4 <sup>a</sup> (34)	10.547 <sup>b</sup> (1021)
<i>Hojarasca</i>			
Hojarasca (g/m <sup>2</sup> )***	711,33 <sup>b</sup> (52,28)	104,94 <sup>a</sup> (30,64)	662,76 <sup>b</sup> (70,61)

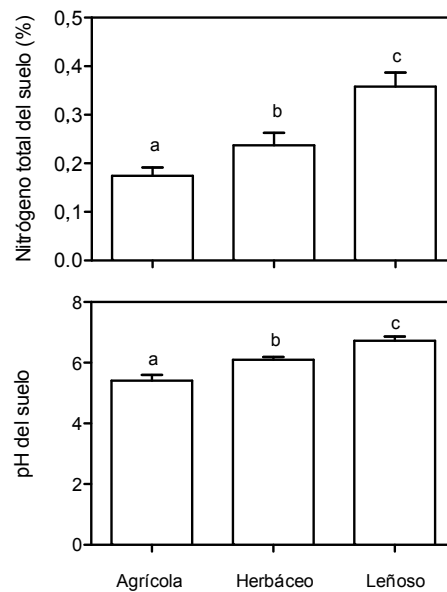
\*\*\*  $P < 0,001$

El contenido de nitrógeno total en los suelos provenientes de márgenes leñosos fue el doble respecto de los lotes agrícolas y un 40% mayor respecto de los márgenes herbáceos (Figura 2.3). El pH del suelo difirió entre los márgenes y lotes agrícolas (Figura 2.3). Los suelos de márgenes leñosos presentaron valores más neutros, los de los lotes agrícolas los más ligeramente ácidos y los suelos de los márgenes herbáceos mostraron un comportamiento intermedio. El contenido de humedad del suelo (gravimétrico y volumétrico) no mostro diferencias significativas entre los tipos de márgenes y los lotes agrícolas, tanto durante el día como durante la noche ( $p > 0,05$ ) (Figura 2.4). La temperatura del suelo, por el contrario, mostró un efecto marginal interactivo entre el tipo de margen y la dinámica durante el día (día o de la noche) (Figura 2.4). La temperatura del suelo de los márgenes leñosos fue más baja durante el día, mientras que la temperatura del suelo de los

márgenes herbáceos fue más baja durante la noche (interacción tipo de parche x momento del día:  $F_{2,7} = 4,28$ ;  $p = 0,09$ ).

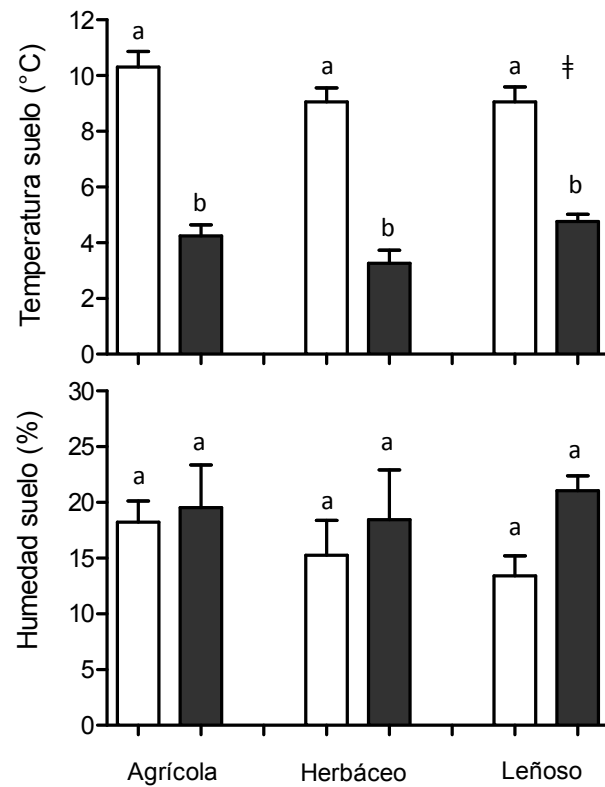


**Figura 2.2** Carbono total y lábil de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a lo largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Las barras representan la media para cada tipo de parche. Las líneas verticales indican  $\pm 1$  error estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los tipos de parche ( $P < 0,05$ ).



**Figura 2.3** Nitrógeno total y pH de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Las barras representan la media para cada tipo de parche. Las líneas verticales indican  $\pm 1$  error estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los tipos de parche ( $P < 0,05$ ).

La hojarasca producida en los márgenes (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas mostró diferencias de calidad (Cuadro 2.4). La de los márgenes leñosos mostró los mayores contenidos de carbono y lignina, la mayor relación carbono/nitrógeno y lignina/nitrógeno, mientras que la de los márgenes herbáceos mostró los contenidos más bajos de lignina (Cuadro 2.4). El contenido de compuestos solubles de la hojarasca de los lotes agrícolas fue inferior y se diferenció significativamente del de los márgenes no cultivados, mientras que el contenido de hemicelulosa de la hojarasca de los márgenes herbáceos fue superior y se diferenció significativamente del de los márgenes leñosos y los lotes agrícolas. El contenido de nitrógeno de la hojarasca entre los márgenes y los lotes agrícolas fue la única característica que no mostró diferencias significativas entre los tipos de parche ( $F_{2, 10} = 1,14$ ;  $p > 0,3$ ; Cuadro 2.4).



**Figura 2.4** Temperatura y humedad volumétrica de la capa superior del suelo (15cm) durante el día (barras blancas) y durante la noche (barras negras) en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Las barras representan la media para cada tipo de parche ( $n=3$ ). Las líneas verticales indican  $\pm 1$  error estándar. Las diferentes letras indican diferencias significativas entre los momentos de muestreo (día y noche) ( $P < 0,05$ ). † La interacción tipo de parche x momento del día de la temperatura resulto marginalmente significativa ( $F_{2, 7} = 4,28$ ;  $p = 0,09$ ).

**Cuadro 2.4** Características iniciales de la hojarasca descompuesta en cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los tipos de parche corresponden a la hojarasca producida en las aéreas sin cultivar dominadas por especies herbáceas o leñosas con vegetación perenne y a lotes agrícolas (agrícola). Los datos representan los valores medios con el error estándar entre paréntesis (n=3). Letras distintas indican diferencias significativas entre tipos de parche (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ).

	Tipo de parche		
	Agrícola	Herbáceo	Leñoso
<i>Características de la hojarasca</i>			
Carbono (%)***	40,83 <sup>a</sup> (1,08)	41,28 <sup>a</sup> (0,27)	49,03 <sup>b</sup> (0,63)
Nitrogen (%)	2,11 <sup>a</sup> (0,17)	1,93 <sup>a</sup> (0,08)	1,87 <sup>a</sup> (0,08)
C/N**	19,66 <sup>a</sup> (1,13)	21,69 <sup>a</sup> (0,78)	26,44 <sup>b</sup> (1,32)
Lignina (%)***	15,56 <sup>b</sup> (0,46)	5,23 <sup>a</sup> (1,19)	22,26 <sup>c</sup> (0,97)
Lignina/N***	7,64 <sup>b</sup> (0,68)	3,03 <sup>a</sup> (0,51)	11,94 <sup>c</sup> (0,68)
Solubles (%)***	24,32 <sup>a</sup> (1,28)	65,71 <sup>b</sup> (3,10)	59,50 <sup>b</sup> (4,76)
Hemicelulosa (%)**	16,15 <sup>a</sup> (1,13)	30,43 <sup>b</sup> (2,56)	17,17 <sup>a</sup> (2,28)

\*\*\*  $P<0,001$ ; \*\* $P<0,01$

La hojarasca producida en los márgenes (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas mostró tasas de descomposición de acuerdo a los cambios en la calidad de la hojarasca (Cuadro 2.4 y 2.5). La hojarasca de los márgenes leñosos se descompuso significativamente menos que el resto. Por el contrario, la hojarasca de los márgenes herbáceos fue el sustrato que más rápido se descompuso (Cuadro 2.5). A su vez, la hojarasca de los lotes agrícolas mostró valores intermedios de descomposición entre la hojarasca de los márgenes leñosos y herbáceos.

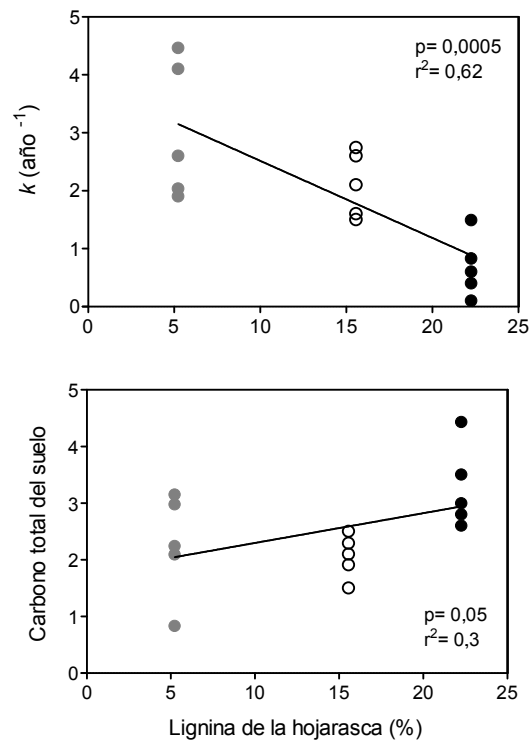
**Cuadro 2.5** Constante de descomposición ( $k$ ) estimada a campo de hojarasca propia tres tipos de parche en la localidad de Pergamino (lotes agrícolas, márgenes no cultivados herbáceos y leñosos). La hojarasca estándar de soja y maíz también fue descompuesta a campo en cada uno de los tres tipos de parche. Los datos muestran el error estándar entre paréntesis ( $n=5$ ). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tipos de parche (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ).

$k$ (año <sup>-1</sup> )	Tipo de parche		
	Agrícola	Herbáceo	Leñoso
Hojarasca propia*	2,03 <sup>ab</sup> (0,26)	3,02 <sup>b</sup> (0,82)	0,53 <sup>a</sup> (0,25)
Hojarasca estándar			
Soja	1,48 <sup>a</sup> (0,13)	1,32 <sup>a</sup> (0,3)	1,94 <sup>a</sup> (0,16)
Maíz	2,01 <sup>a</sup> (0,3)	2,02 <sup>a</sup> (0,37)	2,01 <sup>a</sup> (0,21)

\* $P<0,05$

La dinámica de pérdida de masa de todos los tipos de parches se asoció con la calidad de la hojarasca y el contenido de carbono total del suelo (Figura 2.5). La concentración inicial de lignina estuvo inversamente correlacionada con la descomposición de la hojarasca y explicó el 62% de la variación en la descomposición a lo largo de un período de 90 días ( $p=0,0005$ ;  $n=15$ ), mientras que el contenido de carbono total del suelo se correlacionó positivamente con la concentración inicial de lignina en los tejidos pero explicó solo el 30% de la variación encontrada en descomposición ( $p=0,05$ ;  $n=15$ ).





**Figura 2.5** Relación entre la constante de descomposición ( $k$ ) y el carbono total del suelo de cada uno de los tipos de parche (márgenes herbáceos, leñosos y lotes agrícolas) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires), y el contenido de lignina de la hojarasca. Los datos de lignina corresponden al valor medio del contenido de lignina de la hojarasca de los lotes agrícolas (puntos blancos) y los márgenes no cultivados herbáceos (puntos grises) y leñosos (puntos negros). La línea es la ecuación de regresión.

Los márgenes y lotes agrícolas, sin embargo, no influenciaron la tasa de descomposición de los sustratos estándares (soja y maíz) ( $p > 0,1$ ; Cuadro 2.5). Ambos sustratos, que difirieron en sus tasas de descomposición intrínsecas ( $F_{1, 53} = 7,48$ ;  $p = 0,008$ ) y en la calidad de la hojarasca (Cuadro 2.6), no mostraron variación en las tasas de descomposición en el campo producto de variaciones de condiciones ambientales entre los márgenes y los lotes agrícolas.

Tampoco se registraron diferencias en la descomposición de la hojarasca de soja incubada en microcosmos bajo condiciones controladas de humedad y temperatura en invernáculo ( $p > 0,1$ ; Cuadro 2.7). En cambio, la hojarasca de trigo mostró mayores valores de descomposición cuando fue incubada en suelo proveniente de márgenes leñosos con respecto a las incubaciones en suelo de márgenes herbáceos y lotes agrícolas ( $p = 0,05$ ; Cuadro 2.7). Finalmente, la tasa de respiración del suelo contenido en los microcosmos

mostró tasas significativamente mayores en los suelos provenientes de márgenes leñosos a los 30 días de incubación ( $F_{2,27} = 8,79$ ;  $p = 0,001$ ; Figura 2.6), mientras que no se encontraron diferencias a los 60 y 90 días de incubación.

**Cuadro 2.6** Características iniciales de la hojarasca de soja y maíz que fue utilizada como sustratos comunes en el experimento a campo. Los valores muestran el error estándar entre paréntesis ( $n = 3$ ). Letras distintas indican diferencias significativas entre los dos sustratos (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ).

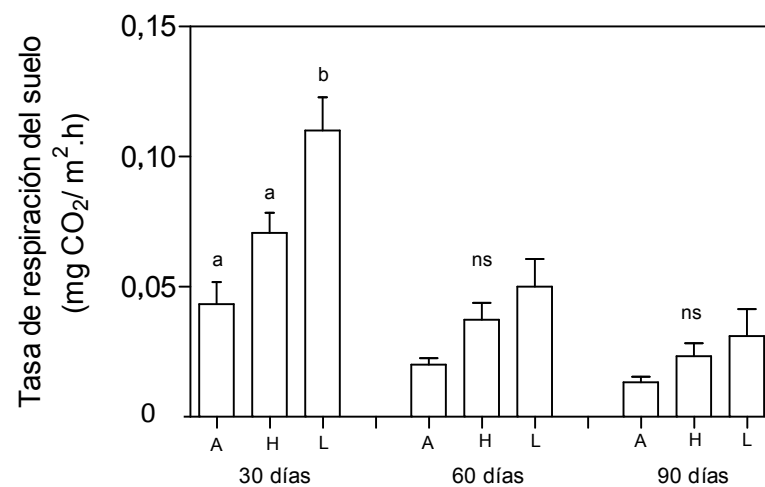
	Hojarasca estándar	
	Soja	Maíz
<i>Características de la hojarasca</i>		
Carbono (%)***	44,08 <sup>b</sup> (0,44)	39,08 <sup>a</sup> (0,36)
Nitrogen (%)***	1,06 <sup>a</sup> (0,10)	1,76 <sup>b</sup> (0,04)
C/N**	42,66 <sup>b</sup> (4,59)	22,29 <sup>a</sup> (0,59)
Lignina (%)**	10,61 <sup>b</sup> (1,37)	3,31 <sup>a</sup> (0,36)
Lignina/N*	11,10 <sup>b</sup> (2,23)	1,85 <sup>a</sup> (0,22)
Solubles (%)	55,08 <sup>a</sup> (4,55)	55,74 <sup>a</sup> (1,36)
Hemicelulosa (%)**	13,70 <sup>a</sup> (0,53)	23,23 <sup>b</sup> (1,36)

\*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$

**Cuadro 2.7** Constante de descomposición ( $k$ ) de residuo de soja y de trigo bajo condiciones controladas de humedad y temperatura en suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Los datos muestran el error estándar entre paréntesis. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tipos de parche (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ).

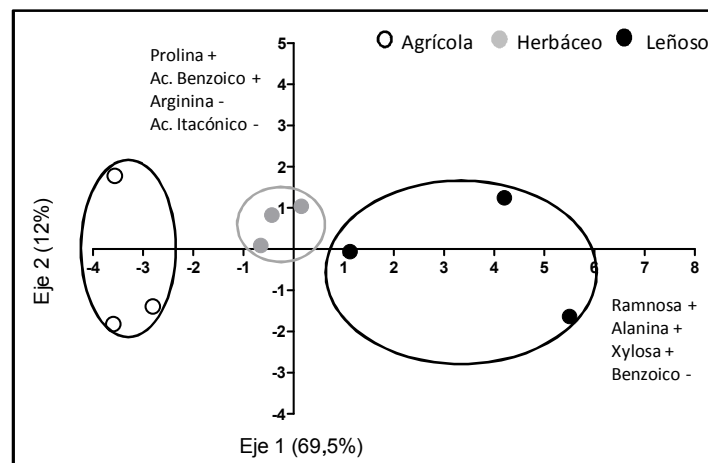
$k$ (año <sup>-1</sup> )	Tipo de parche		
	Agrícola	Herbáceo	Leñoso
Soja	3,41 <sup>a</sup> (0,47)	2,71 <sup>a</sup> (0,27)	3,2 <sup>a</sup> (0,43)
Trigo	3,02 <sup>a</sup> (0,73)	2,74 <sup>a</sup> (0,31)	4,46 <sup>b</sup> (0,15)

\* $P < 0,05$

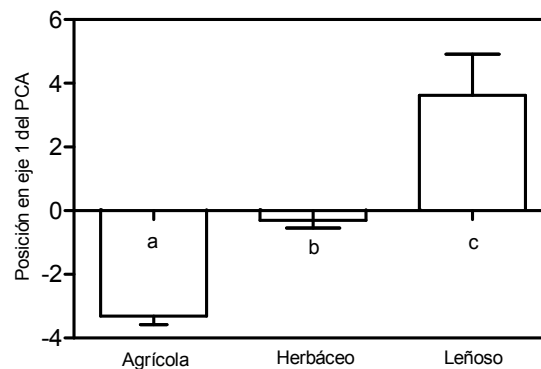


**Figura 2.6** Tasa de respiración de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Estas tasas se obtuvieron en un experimento de descomposición en invernáculo a los 30, 60 y 90 días de incubación. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

La composición funcional de la comunidad bacteriana heterotrófica (perfiles catabólicos) de los suelos provenientes de los distintos márgenes y los lotes agrícolas se diferenció entre sí. El eje principal (Eje 1) explicó el 69,5% de la varianza total de los datos y el segundo explicó el 12% (Figura 2.7). Este agrupamiento mostró diferencias significativas entre los tipos de parche cuando se comparó su posición en el primer eje del análisis de componentes principales ( $F_{2, 27} = 24,75$ ;  $p = 0,0001$ ) (Figura 2.8). Las fuentes carbonadas que determinaron las diferencias en los patrones entre los márgenes fueron principalmente ramnosa, alanina, xylosa y ácido benzoico para el eje 1 del análisis y ácido itacónico, arginina, prolina y ácido benzoico para el eje 2.



**Figura 2.7** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a lo largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Cada punto representa el promedio de los lotes agrícolas y márgenes herbáceos y leñosos en cada una de las localidades (Junín, Pergamino y San Pedro).

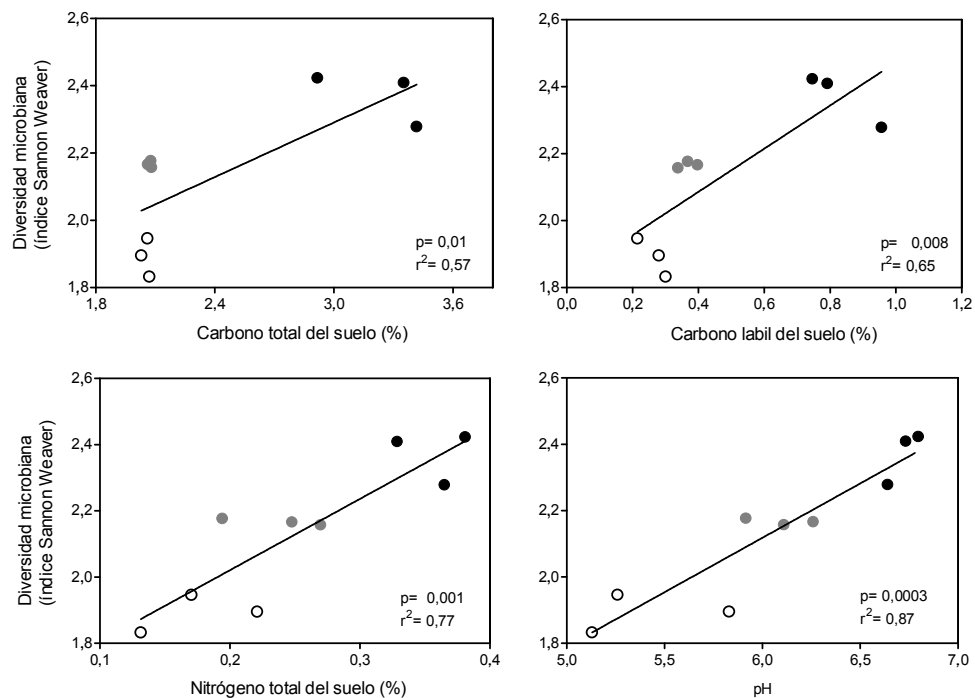


**Figura 2.8** Posición en el primer eje del ordenamiento del análisis de componentes principales (Figura 2.7) de perfiles catábolicos de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

El índice de diversidad funcional de la biota edáfica (Shannon-Weaver) difirió entre los márgenes y lotes agrícolas (Cuadro 2.1. y Figura 2.9). Los márgenes leñosos mostraron los mayores valores de diversidad, los márgenes herbáceos mostraron valores intermedios y los lotes agrícolas los valores más bajos ( $F_{2, 27} = 18,4$ ;  $p = 0,0001$ ). A su vez, la diversidad se correlacionó positivamente con el contenido de carbono total y lábil, el nitrógeno total y el pH del suelo y representó el 57%, 65%, 77% y 87% en de la variación encontrada en diversidad microbiana entre los márgenes y lotes agrícolas, respectivamente (Figura 2.10).



**Figura 2.9** Índice de Shannon- Weaver (H) de diversidad funcional microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a lo largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.



**Figura 2.10** Relación entre la diversidad microbiana y el carbono total y lábil del suelo, el nitrógeno total y el pH de suelos provenientes de tres tipos de parche: lotes agrícolas (cultivados con soja) y dos tipos de márgenes sin cultivar ubicados a los largo de una transecta de 100 km en la región pampeana: herbáceos (suelos cubiertos por vegetación herbácea) y leñosos (suelos cubiertos por vegetación leñosa y sotobosque herbáceo). La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica. Los puntos representan el promedio de los lotes agrícolas, y márgenes herbáceos y leñosos en cada localidad (Junín, Pergamino y San Pedro). Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados.

## 2.6 Discusión

Este capítulo muestra que los márgenes sin cultivar y con vegetación perenne dentro del paisaje agrícola difieren en la biomasa aérea, la hojarasca, el suelo y la diversidad funcional potencial de la comunidad de bacterias heterótrofas del suelo de los lotes agrícolas. Los márgenes dominados por vegetación leñosa combinaron la mayor cantidad de biomasa, los mayores contenidos de carbono en la capa superficial del suelo y las menores tasas de descomposición. Por el contrario, los márgenes herbáceos mostraron menores contenidos de carbono, menor cantidad de biomasa aérea y hojarasca, y las mayores tasas de descomposición de su hojarasca. Las diferencias en las tasas de descomposición de la hojarasca encontradas entre los márgenes (herbáceos y leñosos) y los lotes agrícolas se relacionaron exclusivamente con la calidad de la hojarasca, ya que las tasas de descomposición de los sustratos estándares no se vieron afectadas por la ubicación en el paisaje (tipo de parche). Los perfiles catabólicos y la diversidad funcional potencial de la comunidad microbiana también revelaron un patrón dependiente del tipo de parche. La composición y la diversidad funcional fue mayor en los márgenes leñosos, intermedia en los herbáceos e inferior en los lotes agrícolas.

Los márgenes dominados por vegetación leñosa jugaron un papel fundamental en la acumulación local de carbono en la capa superficial del suelo. Estos resultados son relevantes porque brindan una idea más precisa sobre el límite superior de acumulación de carbono que estos suelos, que es mayor que el documentado en estudios previos (Álvarez et al. 2009, Caride et al. 2012). Los márgenes leñosos mostraron valores aproximadamente 55% mayores que el carbono acumulado en los lotes agrícolas, y superior al documentado por estudios recientes que muestran reducciones de carbono en el suelo de relictos de pastizal producto de la agricultura en la región de 20 a 35% (Álvarez et al. 2009, Caride et al. 2012). Por un lado, es posible que la evidencia previa haya subestimado el potencial de almacenamiento de carbono en estos suelos debido a que los lotes cultivados se contrastaron con pasturas de largo plazo o pastizales sin evidencia de agricultura (Álvarez et al. 2009, Caride et al. 2012). Por otro lado, en este estudio solo se evaluó el contenido de carbono de la capa superficial del suelo (hasta 15 cm), mientras que en los estudios previos el muestreo alcanzó desde los 20cm hasta el metro de profundidad. A su vez, debido a que ni este estudio ni los previos evaluaron el carbono a mayores profundidades, podrían existir efectos históricos del manejo a largo plazo que estos estudios no permiten detectar. La evidencia muestra que la invasión de especies arbóreas europeas (por ejemplo, *Gleditsia triacanthos*, *Melica alba*) parece haber llegado a un punto espontáneo de no retorno a la condición de pastizal (Ghersa y León, 1999, Ghersa et al. 2002, Chaneton et al. 2013). Los resultados de este capítulo demuestran que este nuevo elemento introducido en el paisaje de Pampa Ondulada por acción antrópica aumenta el contenido de carbono de la capa superficial del suelo. Sin embargo, a escala regional, los efectos sobre el contenido de



carbono del suelo serán muy pequeño frente al balance negativo dentro de los lotes de cultivo que ocupan la mayor proporción del paisaje.

La invasión leñosa de estos ecosistemas, producto de un proceso natural o de plantaciones comerciales, altera dramáticamente la dinámica del agua a causa de una mayor evapotranspiración y aumentos en el riesgo de salinización de los suelos (Jobbagy et al. 2008). Por el contrario, su impacto sobre el balance de carbono parece ser más difícil de predecir. Un análisis reciente mostró un gradiente de efectos desde negativos a positivos en función de factores tales como la edad de la plantación (Eclesia et al. 2012). Más aún, este análisis mostró que los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo fueron independientes de la vegetación nativa y muy dependiente su vegetación actual. En última instancia, la evaluación de la inclusión de los márgenes leñosos como parte de un diseño paisajístico orientado al desarrollo de agroecosistemas sostenibles también debe tener en cuenta otros servicios ambientales distintos de la provisión de bienes. En este contexto, nuestros resultados sugieren que los márgenes leñosos pueden constituir parches locales de almacenamiento de carbono en la capa superficial del suelo, y en la biomasa de madera, insertados en una matriz agrícola que posee un balance en general negativo de acumulación de carbono en el suelo (Caride et al. 2012). Si bien, los diferentes tipos funcionales de plantas tienen un efecto significativo sobre la distribución vertical del carbono edáfico, Jobbagy y Jackson (2000) encontraron que el porcentaje de carbono en los primeros 20 cm (en relación con el primer metro) promedió el 42% y 50% para pastizales y parches. Más aún, las áreas leñosas en zonas templadas con relativamente alta asignación de carbono hacia la parte aérea pueden tener perfiles de suelo con contenidos de carbono menos profundos que los pastizales templados, donde la asignación a la biomasa aérea relativa es inferior (Jackson et al. 1996). Frente a esta evidencia, este trabajo considera que es la calidad y cantidad de la hojarasca de la vegetación leñosa, con relativamente baja tasa de descomposición (por su alto contenido de lignina), la que contribuye a aumentar el almacenamiento de carbono superficial del suelo de los márgenes leñosos.

El carbono del suelo de los márgenes dominados por vegetación herbácea espontánea resultó menor que lo esperado. Si bien se esperaba que su contenido fuese menor con respecto a los márgenes leñosos producto del manejo al que están sometidos, su biomasa vegetal y hojarasca resultó similar a la situación control (lotes agrícolas). Las características de la comunidad vegetal de los márgenes herbáceos sugiere que la producción primaria total de estas comunidades sería mayor que la de los lotes agrícolas. Por un lado, la combinación de especies perennes C3 y C4 en los márgenes herbáceos, que asegura una producción de biomasa durante todo el año y un sistema radical desarrollado (Semmartin et al. 2007). Por otro lado, las diferencias en los patrones de traslocación de carbono entre las especies anuales de los cultivos y las perennes de los márgenes herbáceos indica que los primeros son capaces de traslocar entre el 20 y 30% del total del carbono

asimilado, mientras que los segundos entre el 30 y 50% (Kuznyakov y Domanski 2000). Por último, que la producción primaria total de las comunidades de pastizal sería mayor que la de los lotes agrícolas, debido a que presentan períodos más cortos de alta producción de biomasa de raíces y cobertura. Podría suponerse que eventualmente las diferencias en el contenido de carbono entre estos parches (márgenes herbáceos y lotes agrícolas) ocurrieran en horizontes más profundos (por debajo de 15 cm) que los alcanzados por este estudio, debido a las características fibrosas de los sistemas radiculares graminosos de los márgenes herbáceos. Sin embargo, Álvarez y colaboradores (2011) encontraron que al comparar lotes bajo siembra directa y relictos de pastizal poco disturbado (clausuras con más de 20 años de exclusión del pastoreo, dominadas por pastos perennes), las diferencias en los contenidos de carbono fueron más altas en las capas superficiales del suelo y esencialmente ausente en las capas más bajas de 15-30 cm. En este contexto, se cree que es el manejo al que están sometidos los márgenes aquí estudiados el que podría contrarrestar su potencial de fijación de carbono. Si bien los márgenes herbáceos considerados en este estudio son potencialmente muy productivo, su productividad se ve afectada por el manejo al que están sometidos. Estos márgenes reciben con frecuencia la aplicación directa de herbicidas (de la Fuente et al. 2010) con el propósito de controlar la gran abundancia y diversidad de malezas documentada en estos hábitats (Poggio et al. 2010, 2013). Por lo tanto, esta práctica reduce el potencial de cobertura vegetal del suelo, afecta a la composición de la comunidad vegetal (suelen estar dominados por especies anuales), reduce la acumulación de hojarasca y la producción de biomasa radical. Es por ello, que las prácticas agrícolas actuales perjudican a los márgenes herbáceos mediante la reducción de su potencial para fijar carbono, de tal manera, que también son esperable reducciones en los contenidos de carbono del suelo. Una disminución en el uso de herbicidas, eventualmente, permitiría a la vegetación perenne dominar en los márgenes herbáceos y redundaría en una mayor acumulación de hojarasca y carbono en el suelo. En resumen, las prácticas agrícolas actuales reducen el potencial de los márgenes herbáceos para fijar el carbono con su consecuente reducción en el contenido de carbono en el suelo (Halvorson et al. 1999, Caride et al. 2012).

Si bien los márgenes determinaron grandes diferencias entre sí en algunas propiedades (del suelo, de la biomasa aérea, y de la composición y diversidad microbiana del suelo), las diferencias en la temperatura y la humedad del suelo fueron entre moderadas y nulas. Los dos tipos de márgenes aquí estudiados fueron muy diferentes entre sí en calidad de la hojarasca para los descomponedores. La de los márgenes leñosos fue más recalcitrante y presentó menores tasas de descomposición mientras que la de los márgenes herbáceos presentó un patrón opuesto. Sólo un rasgo de la hojarasca, el contenido inicial de lignina, representó el 62% de la variación en las tasas de descomposición. A su vez, las correlaciones negativas y significativas entre el contenido de lignina y las tasas de

descomposición sugieren que los márgenes leñosos, en parte, afectan la acumulación de carbono en el suelo mediante la recalcitrancia de su hojarasca. Por el contrario, los márgenes y lotes agrícolas no afectaron notablemente el microambiente de descomposición. La similitud en los factores ambientales entre los márgenes y lotes agrícolas explicaría la falta de diferencias en las tasas de descomposición de los sustratos estándares (utilizados para aislar los efectos de la calidad de hojarasca de los efectos ambientales) entre los tipos de márgenes. Sin embargo, parecería que sólo en regiones donde el agua es el factor limitante para la descomposición (desiertos o regiones semi-áridas), la disponibilidad de agua podría llegar a ser la influencia dominante de la descomposición de la hojarasca (Couteaux et al. 1995). Si bien los efectos ambientales (temperatura y humedad) sobre la descomposición de la hojarasca son más esperables a escalas mayores de variación (Dyer et al. 1990), recientemente se ha demostrado que la combinación de la calidad de la hojarasca, humedad y temperatura son los factores con mayor poder de regulación del proceso de descomposición y que pueden representar hasta casi el 90% de la variación (Zhang et al. 2008). Los resultados de esta tesis sugieren que los efectos de los márgenes y lotes agrícolas sobre el carbono de la capa superficial del suelo fueron en gran parte mediados por las diferencias en la calidad de la hojarasca, y su impacto durante la descomposición, y no mediante cambios en el microambiente edáfico (temperatura y humedad).

La composición y diversidad funcional microbiana fueron diferentes entre tipos de parches. La composición microbiana y la diversidad funcional fueron mayores para los márgenes leñosos, intermedia para los márgenes herbáceos e inferior para los lotes agrícolas. A su vez, la diversidad de las comunidades bacterianas estuvo fuertemente correlacionada con propiedades específicas del suelo como el carbono total y lábil, el nitrógeno total y el pH. Estudios anteriores han demostrado que cambios en algunas propiedades del suelo como la textura, el pH y la disponibilidad de nitrógeno pueden estar asociados con cambios en la estructura de las comunidades bacterianas y fúngicas (Frey et al. 2004, Fierer y Jackson 2006). El pH ha sido descrito como un buen predictor de la diversidad de la comunidad bacteriana del suelo en la escala continental (Fierer y Jackson 2006). Más aún, un estudio realizado por Sainz Rozas y colaboradores (2011) en la región muestra que los valores de pH no serían limitantes para la producción de cultivos intensivos. A pesar de que el rango de pH explorado en este estudio fue estrecho (5 a 7), nuestros resultados sugieren que también es un buen predictor en escalas más pequeñas. Sin embargo, a pesar de que los parámetros edáficos estuvieron asociados con la diversidad microbiana en los parches explorados, no proporcionan necesariamente un mecanismo que controla su diversidad. Los resultados de esta tesis sugieren que son otros los factores (asociados al manejo agrícola) que están determinando la composición y diversidad de las comunidades microbianas en los sitios estudiados. En los lotes agrícolas, las labores agrícolas frecuentes, el uso de fertilizantes y herbicidas, y los períodos libres de cultivo

imprimen un alto grado de estrés en las comunidades microbianas que las volvería menos diversas. En los márgenes leñosos, por el contrario, la gran diversidad de sustratos y la baja frecuencia de disturbios permitiría el sostenimiento de grandes poblaciones de bacterias. Existe evidencia que muestra que en suelos de lotes agrícolas linderos a parches de bosque, el aumento de oportunidades para la inmigración de bacterias transmitidas por el viento y a la probabilidad de éxito en la colonización de las especies invasoras aumenta la diversidad de las comunidades edáficas en los suelos agrícolas linderos (Upchurch et al. 2008). Sin embargo, en el sistema estudiado, las grandes diferencias en la producción de biomasa y hojarasca en los márgenes leñosos respecto de los otros parches estudiados explicarían en gran parte la diversidad funcional hallada en estos ambientes (Giller et al. 1997). En cambio, la baja cobertura vegetal en gran parte del año, por el uso de herbicidas en los márgenes herbáceos y durante la etapa libre de cultivo en los lotes agrícolas, explicaría la baja diversidad en estos otros parches (Zelles et al. 1999).

La cantidad de carbono almacenado en los primeros 15 cm del suelo y la diversidad funcional de la biota edáfica dependieron del tipo de parche. Las diferencias halladas entre los suelos sometidos a los distintos usos, que ocupan áreas bien delimitadas en el paisaje y se encuentran separados por escasa distancia, fueron consistentes en las distintas localidades estudiadas a lo largo de la transecta de 100 km. Es esperable que la composición y la diversidad funcional de la biota del suelo sean más estables en los márgenes no cultivados que en los lotes agrícolas sometidos a labores recurrentes y alternancia de cultivos. A su vez, el tratamiento frecuente con herbicidas totales, que altera la cobertura de los márgenes herbáceos, agrega un elemento estocástico a la hora de predecir el papel de estos parches en la provisión de servicios ecosistémicos de regulación (almacenamiento de carbono) y sostén (dispersión de la biota). La comprensión de los factores que controlan el ciclado del carbono y la diversidad funcional de microorganismos del suelo asociada a este proceso a escala de paisaje permite abarcar tanto los elementos con balance positivo como negativo. Estos elementos podrían ser combinados con el objetivo de aumentar el contenido de carbono en la capa superficial del suelo y conservar diversidad funcional microbiana en agroecosistemas frente al contexto del cambio global, incluso en sistemas donde los hábitats no cultivados representan una pequeña fracción del paisaje (Ghera et al. 2002).

En conclusión, los resultados de este capítulo sugieren que los márgenes sin cultivar podrían constituir reservorios de la biota edáfica. Además, los márgenes leñosos representan el único elemento actual en el paisaje con un limitado potencial, aunque eficaz, para la conservación de carbono de la capa superficial del suelo. Sin embargo, esta tesis no ha considerado propiedades físicas de los suelos relacionadas con los contenidos de carbono del suelo como la densidad aparente, y el grado de agregación y la estabilidad estructural del suelo (Six et al. 2000) que podrían estar sobreestimando el potencial de los márgenes

leñosos como reservorio de carbono. A su vez, la baja producción de biomasa y hojarasca de los márgenes herbáceos revela la urgente necesidad de volver a pensar las estrategias de manejo actuales de estos elementos del paisaje para mejorar su papel en términos de acumulación de carbono.

**Cuadro Anexo 2.1** Área basal y densidad por especie en cada uno de los sitios leñosos (márgenes leñosos) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los sitios corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies leñosas con vegetación perenne.

Sitio	Especie	Área basal (m <sup>2</sup> /ha)	Densidad (individuos/ha)
A	<i>Acacia sp.</i>	0,077985922	12,99224025
A	<i>Gleditsia triacanthos</i>	0,169420437	149,4107629
A	<i>Morus alba</i>	0,054781131	12,99224025
A	<i>Ulmus sp.</i>	0,058696343	12,99224025
A	<i>Melia azedarach</i>	2,999370396	383,2710874
B	<i>Broussonetia papyrifera</i>	0,326673478	142,9146428
B	<i>Fraxinus sp</i>	0,294181997	12,99224025
B	<i>Ligustrum sp.</i>	0,968680646	545,6740906
B	<i>Melia azedarach</i>	0,396303766	12,99224025
C	<i>Broussonetia papyrifera</i>	2,666394381	441,7361686
C	<i>Ligustrum sp.</i>	0,108933601	6,496120126
C	<i>Melia azedarach</i>	0,180314593	19,48836038
D	<i>Populus alba</i>	0,257831008	6,496120126
D	<i>Broussonetia papyrifera</i>	0,917830641	285,8292856
D	<i>Fraxinus sp.</i>	1,203292937	123,4262824
D	<i>Gleditsia triacanthos</i>	1,041257289	25,9844805

**Cont. Anexo 2.1**

Sitio	Especie	Área basal (m <sup>2</sup> /ha)	Densidad (individuos/ha)
D	<i>Ligustrum sp.</i>	1,154056366	467,7206491
D	<i>Melia azedarach</i>	0,258205022	58,46508114
E	<i>Acacia sp.</i>	0,457864898	51,96896101
E	<i>Broussonetia papyrifera</i>	1,464663153	513,19349
E	<i>Fraxinus sp.</i>	0,702446257	12,99224025
E	<i>Ligustrum sp.</i>	0,004933803	19,48836038
E	<i>Melia azedarach</i>	0,230002766	38,97672076
E	<i>Salix babylonica</i>	1,113097841	6,496120126

**Cuadro Anexo 2.2** Área basal y densidad total en cada uno de los sitios leñosos (márgenes leñosos) de la localidad de Pergamino (Pcia. de Buenos Aires). Los sitios corresponden a las aéreas sin cultivar dominadas por especies leñosas con vegetación perenne.

Sitio	Área basal (m <sup>2</sup> /ha)	Densidad (individuos/ha)
A	3,360254229	571,658571
B	1,985839887	714,573214
C	2,970356449	467,720649
D	4,832473262	967,921899
E	3,973008718	643,115892

## CAPÍTULO 3

---

### EFECTOS DE LA HETEROGENEIDAD TEMPORAL DEBIDA A LAS SECUENCIAS DE CULTIVOS SOBRE LA BIOTA EDÁFICA Y LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA

#### 3.1 Introducción

Los microorganismos del suelo participan en procesos esenciales para la agricultura y a la vez son afectados por ella. Entre el 80 y 90% de los procesos que incluyen la descomposición y el ciclado de nutrientes (Wardle et al. 2004), el mantenimiento de la estructura del suelo, el filtrado de contaminantes químicos, y el control de pestes y plagas están mediados por microorganismos (Nannipieri y Badalucco 2003). La evidencia empírica proviene de estudios en los que se evalúan usos contrastantes de la tierra. Por ejemplo, el remplazo de selvas tropicales o pastizales por pasturas o agricultura afecta la composición, diversidad y funcionamiento de la biota edáfica (Bossio et al. 2005, Postma-Blaauw et al. 2010). Más aún, en el capítulo 2 de esta tesis mostré que la comunidad microbiana edáfica de los márgenes sin cultivar tienen una composición diferente que la de los lotes cultivados, y una mayor diversidad funcional. En suelo agrícolas, la perturbación del suelo debida a las labranzas es la práctica de manejo que más impacta sobre el contenido de carbono orgánico del suelo y su tasa de liberación para mantener la biomasa microbiana (Dick 1992). Sin embargo, dentro de ciclos exclusivamente agrícolas y bajo labranza mínima, la incorporación de diversas secuencias de cultivos también puede modificar la actividad, composición y diversidad de la comunidad microbiana edáfica y los procesos que regulan (Bossio et al. 1998, Lupwayi et al. 1998, 1999).

Entre los mecanismos subyacentes a estos cambios se encuentran los cambios en la cantidad y calidad de la hojarasca que ingresa al suelo, en el volumen de raíces de las especies cultivadas, y en las condiciones físicas del suelo. En el capítulo anterior se encontró una correlación positiva entre el contenido de carbono y el pH del suelo y la diversidad funcional. A su vez, en otros estudios se ha detectado que aquellas secuencias de cultivos que incluyen especies leguminosas pueden incrementar la cantidad de nitrógeno disponible en el suelo (Martin-Rueda et al. 2007, Sainju et al. 2007) y los niveles de materia orgánica con respecto a monocultivos de cereales (Campbell et al. 1991, Campbell y Zentner 1993). Por otro lado, también existe evidencia que revela que la incorporación al



suelo de los residuos del cultivo, el laboreo y la fertilización reducen la abundancia y diversidad de grupos funcionales de la biota edáfica (Bouwman y Zwart 1994, Roper y Gupta 1995, Mäder et al. 2002, Gómez y Garland 2012). A su vez, a largo plazo, la pérdida de materia orgánica producto de los continuos ciclos agrícolas pueden afectar marcadamente la composición relativa de hongos y bacterias (Yeates et al. 1997, Bardgett y McAlister 1999, Bossuyt et al. 2001, De Vries et al. 2006, Maharning et al. 2009)

Si la pérdida de especies microbianas involucra a un grupo funcional, definido como un grupo de especies que contribuyen en el funcionamiento del ecosistema de manera similar (Brussaard et al. 2007), puede llevar a cambios en el funcionamiento. Sin embargo, cuando se evalúan aspectos funcionales la existencia de redundancia funcional en la biota del suelo puede enmascarar diferencias de manejo. Por ejemplo, el uso de diversas secuencias de cultivos, que aportan heterogeneidad en la cantidad y la calidad de la hojarasca, puede alterar la diversidad biológica del suelo sin afectar procesos como la descomposición o la respiración del suelo (Bending et al. 2000, 2002, Zak et al. 2003, Lauber et al. 2008, Gonzáles-Chávez et al. 2010). Los conocimientos actuales sobre la biodiversidad microbiana subterránea, y sobre los procesos regulados por los microorganismos, sugieren que las comunidades del suelo son funcionalmente resistentes a las perturbaciones antropogénicas. Esto se debe a la considerable redundancia funcional y a la complejidad de su red trófica (Swift et al. 2004, Bardgett 2005, Rantalainen et al. 2006, 2008). Por lo tanto, los efectos de la incorporación de diversas secuencias de cultivos podrían no ser tan predecibles a la hora de evaluar procesos que caracterizan el funcionamiento del agroecosistema como la descomposición.

El estudio de las comunidades microbianas del suelo (composición y diversidad) resulta un indicador temprano de los cambios producto del manejo de los cultivos (Wardle 1995). Comprender el impacto de la intensificación agrícola sobre estas comunidades del suelo es útil para (i) preservar y restaurar la diversidad biológica de los suelos agrícolas, (ii) mejorar su papel en el funcionamiento de los agroecosistemas y en el secuestro de carbono en los suelos, como medio para mitigar el desbalance entre la emisión y fijación de dióxido de carbono. En este capítulo se evaluó el papel que desempeñan diferentes secuencias de cultivo sobre la microbiota edáfica heterótrofa y sobre la tasa descomposición de la hojarasca en lotes agrícolas de la Pampa Ondulada.

### **3.2 Objetivo**

El objetivo es analizar las diferencias en la diversidad, estructura y funcionamiento de la biota edáfica entre sitios agrícolas con variabilidad temporal en los cultivos (diferentes secuencias) y sitios sin variabilidad temporal en los cultivos (monocultivo).

### 3.3 Hipótesis

La siembra de diferentes secuencias de cultivos afecta la diversidad, estructura y funcionamiento de la biota edáfica mediante diferencias en la calidad y cantidad de la hojarasca producida, y en las condiciones del ambiente edáfico (contenido hídrico o pH del suelo). *Predicción: la identidad de los cultivos incluidos en la secuencia genera variabilidad temporal en el ambiente edáfico que podrá ser detectada por la composición y diversidad funcional de la biota edáfica del suelo. A su vez, los suelos provenientes de lotes agrícolas bajo diferente secuencia de cultivos mostrarán diferencias en sus tasas de descomposición y respiración de suelo, principalmente producto de cambios en la cantidad y calidad de la hojarasca que recibieron, y de cambios en las condiciones del ambiente físico.*

### 3.3 Materiales y métodos

#### 3.3.1 Descripción del sitio de estudio

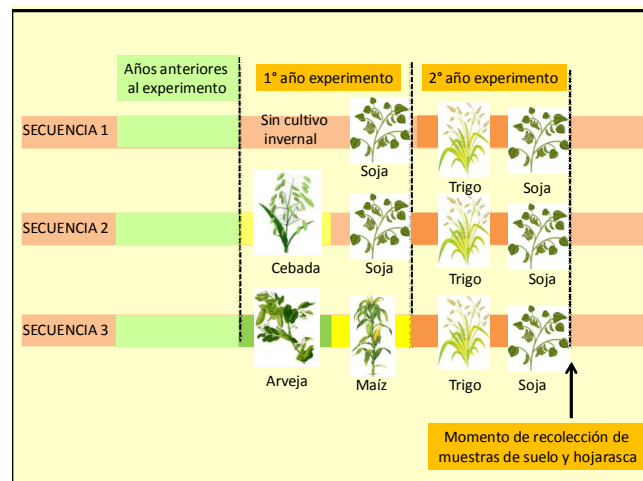
Este trabajo fue conducido en La Pampa Ondulada, en los mismos sitios descriptos en el capítulo anterior (Junín, Pergamino, San Pedro, véase capítulo 2). El uso de la tierra en la región se caracterizó a partir de los datos obtenidos del Censo Nacional Agropecuario de 2008 (CNA 2008). La agricultura es el uso de la tierra predominante de la región. La superficie de la tierra ocupada con cultivos anuales supera el 90%, mientras que la destinada a uso forrajero es de aproximadamente el 8% y la superficie sin utilizar es del 1%. Los cultivos anuales más importantes son soja, maíz y trigo. De los cultivos estivales (soja y maíz), la soja es la que ocupa la mayor superficie cultivada: representa el 60% de la superficie sembrado como único cultivo del año y el 16% sembrado a continuación de un cultivo invernal, generalmente trigo. Esta última práctica, denominada como “cultivo de segunda” permite obtener dos cosechas por año en una misma unidad de superficie. El cultivo de maíz ocupa, en el área estudiada, una superficie del 15%. De los cultivos invernales, el trigo es el principal (13% de la superficie sembrada) mientras que el resto ocupa el 5% (cebada, arveja).

#### 3.3.2 Descripción de los estudios realizados

Los sitios se ubicaron en tres localidades de la provincia de Buenos Aires dentro de la Pampa Ondulada: Junín (estancia La Libertad), Pergamino (estancia La Lucila) y San Pedro (estancia La Teresa). En cada una de las tres localidades se consideraron dos repeticiones de cada uno de los tratamientos (secuencias de cultivos: soja, cebada-soja y arveja-maíz) correspondientes a uno de los experimentos de la tesis doctoral de José Andrade (FAUBA).

Las secuencias de cultivo se seleccionaron según su relevancia en la zona de estudio. Los genotipos empleados fueron los de mejor comportamiento en la zona. Las fechas y densidades de siembra se ajustaron a los genotipos seleccionados y a la zona geográfica del experimento (Cuadro 3.1). Cada una de las dos parcelas (repeticiones) ocupó una superficie de 22 m de ancho por 200 m de largo (4400 m<sup>2</sup>). Previo al inicio del experimento, todas las parcelas fueron sometidas al mismo tipo de manejo (labores y tipos de cultivos) (Figura 3.1). En el primer año del experimento las parcelas estuvieron sembradas con las diferentes secuencias de cultivos, soja, cebada-soja y arveja-maíz, mientras que en el segundo año se realizó la misma secuencia (trigo-soja) para todas las parcelas. La siembra de los cultivos del primer año del experimento se realizó sobre el rastrojo del cultivo antecesor, mientras que los cultivos de segunda fueron sembrados inmediatamente luego de la cosecha de su cultivo antecesor. La fertilización se realizó previo a la siembra de los cultivos con la premisa de que los nutrientes no limiten su crecimiento. Los cultivos de soja y arveja se inocularon antes de la siembra. El control de malezas, plagas animales y enfermedades se realizó mediante control químico.

En cada una de las parcelas se recolectaron muestras de hojarasca y suelo una vez finalizado el segundo año del experimento (post secuencia trigo-soja en todas las parcelas, Figura 3.1). Se evaluó la cantidad de hojarasca y se caracterizó la comunidad de microorganismos del suelo. Además, se estimó la tasa de descomposición de la hojarasca de trigo y la respiración del suelo en un experimento bajo condiciones controladas en suelos provenientes de las mismas parcelas.



**Figura 3.1** Esquema del diseño experimental y las mediciones. Cada secuencia (sin cultivo-soja, cebada-soja y arveja-maíz, cada una de ellas seguida una secuencia de trigo-soja) contó con dos repeticiones en cada una de las tres localidades estudiadas (Junín, Pergamino y San Pedro). La flecha indica el momento en el que se recolectaron las muestras de suelo y hojarasca al final del segundo año de experimentación.

**Cuadro 3.1** Genotipo, fecha de siembra y densidades utilizadas de cada uno de los cultivos incluidos en las secuencias.

Cultivo	Genotipo	Fecha de siembra	Densidad de siembra
Trigo	Baguette 11	Mayo-junio	280 plantas/m <sup>2</sup>
Cebada	Scarlett	Mayo-junio	250 plantas/m <sup>2</sup>
Arveja	Vipper	Julio	80-100 plantas/m <sup>2</sup>
Soja	DM 4670	Octubre	30 plantas/m <sup>2</sup>
Maíz	DK 747	Septiembre	8 plantas/m <sup>2</sup>

### 3.3.3 Variables de respuesta

#### 3.3.3.1 Hojarasca, variables del suelo y microbiota edáfica

La cantidad de *hojarasca* se determinó mediante la recolección de los residuos vegetales sobre la superficie del suelo, a partir de seis marcos situados al azar de 0,4 x 0,4 m en cada parcela al finalizar el segundo año del experimento (Figura 3.1). Los *suelos* fueron evaluados a partir de cinco muestras de suelo a una profundidad de 10 cm en cada parcela. Se midió el *contenido gravimétrico de humedad* a partir de muestras tomadas al finalizar el segundo año del experimento (luego de la siembra de la secuencia trigo-soja en todas las parcelas) con la misma metodología descrita en el capítulo 2. El *pH* del suelo se midió en laboratorio con un peachímetro electrónico en una solución agua:suelo 2.5:1. El muestreo de *microorganismos del suelo* se realizó a partir de cinco submuestras de suelo tomadas a 10 cm de profundidad durante la primavera en cada parcela sometida a distinto tipo de secuencia de cultivos. Estas muestras se conservaron en la heladera (4°C) hasta su determinación. Para cada muestra de suelo se estimaron el perfil catabólico de los microorganismos del suelo mediante la metodología de perfiles de utilización de fuentes carbonadas (Garland y Mills 1991) adaptada por Di Salvo y García de Salamone (2012) (ver descripción detallada en el Capítulo 2). Finalmente, se calculó la diversidad funcional mediante el índice de Shannon-Weaver (H) que combina la riqueza y uniformidad en la distribución de la actividad metabólica (ver descripción detallada en el Capítulo 2).

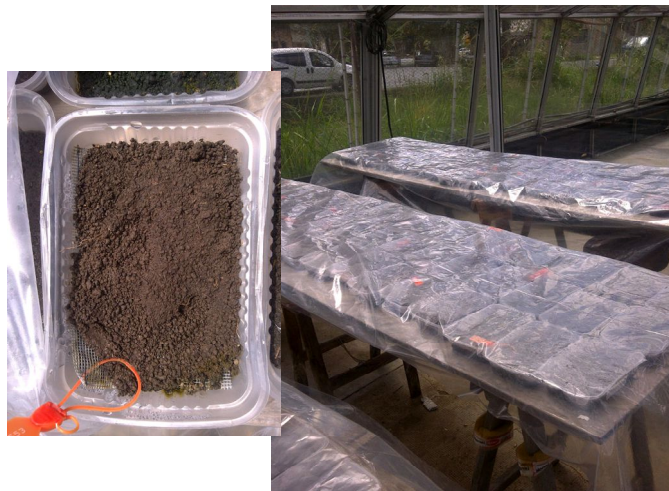
#### 3.3.3.2 Tasas de descomposición y respiración del suelo

Se realizó un experimento bajo condiciones controladas en invernáculo con el objetivo de estimar las tasas de descomposición de la hojarasca de trigo y de respiración de suelo en microcosmos de suelos provenientes de lotes sometidos a diferentes secuencias de cultivo. Se recolectó hojarasca fresca y senescente de trigo (tallos y hojas) en áreas cultivadas dentro del área de estudio pero en lotes diferentes a los utilizados en las parcelas experimentales. La hojarasca recolectada se cortó en trozos de 5 cm de largo aproximadamente con el objetivo de simular la acción de la macrofauna del suelo (Seastedt 1984). Se armaron bolsas de descomposición (de 15 x 10 con 2 mm de malla de fibra de vidrio) conteniendo 1 g de hojarasca de trigo secada al aire. Los suelos de cada tipo de secuencia fueron recolectados al finalizar el segundo año del experimento (Figura 3.1) de las mismas unidades experimentales y se colocaron en bandejas individuales de 20 cm x 15 cm y 5 cm de altura. El diseño fue un factorial con tres tipos de secuencias de cultivo (sin cultivo-soja, cebada-soja y arveja-maíz, cada una de ellas seguidas de una secuencia trigo-soja) y tres fechas de cosecha (30, 60 y 90 días de incubación). En cada bandeja se colocó una bolsa con 1 g de hojarasca de trigo (n= 5). Las bolsas se cubrieron con 1 cm de tierra y

se presionaron suavemente para mejorar el contacto suelo-hojarasca. Cada unidad experimental (bandeja + bolsa de descomposición) fue ubicada aleatoriamente dentro del invernáculo y se incubaron a 25° C durante un período máximo de 90 días. El contenido gravimétrico de humedad del suelo se mantuvo constante mediante la adición de agua destilada durante todo el experimento a partir de su evaluación diaria.

Luego de transcurridos los correspondientes períodos de incubación (30, 60 y 90 días) se recogieron 5 bolsas del suelo correspondiente a cada tratamiento (secuencia de cultivo) y se analizaron para calcular la pérdida de masa durante el tiempo de incubación y estimar la tasa de descomposición, mediante un modelo exponencial decreciente simple como el descrito en el Capítulo 2 (Swift et al. 1979). Debido a que la tasa de descomposición se estimó a partir del material remanente a lo largo del período de incubación, se cuantificó la pérdida de material de las bolsas producto del manipuleo usando 5 bolsas adicionales sometidas al mismo procedimiento que aquellas bolsas puestas a incubar, pero que fueron inmediatamente removidas y procesadas en el laboratorio. Luego esta información se utilizó para corregir las tasas de descomposición estimadas.

La tasa de respiración del suelo fue estimada utilizando un respirómetro portátil (PPSystems, SRC-1, Soil CO<sub>2</sub> flux System, UK). La respiración se estimó en los mesocosmos una vez recolectada la bolsa de hojarasca a los 30, 60 y 90 días desde su incubación y luego de 48 horas de incubación en oscuridad (Norman et al. 1992).



**Foto 3.1** Microcosmos con suelo recolectado en parcelas sometidas a distintas secuencias de cultivo de tres localidades de la Pampa Ondulada: Junín, Pergamino y San Pedro. Cada bandeja, cubierta con nylon transparente, contenía una bolsa de descomposición con hojarasca de soja que se ubicó en invernáculo con temperatura y humedad controladas.

### 3.3.4 Análisis estadísticos

En una primera instancia las variables fueron analizadas bajo un diseño anidado (las distintas secuencias de cultivo anidadas dentro del factor localidad). Finalmente, como el factor localidad no tuvo efecto significativo, se realizó un promedio por secuencia de cultivo (tratamiento) de cada una de las variables y los datos fueron analizados mediante un ANOVA. Cuando se encontraron efectos significativos, las medias fueron comparadas con la prueba LSD Fisher.

Los perfiles catabólicos se analizaron mediante un PCA y se compararon los tipos de secuencias por medio de un ANOVA con la posición sobre el primer eje del PCA (Semmartin et al. 2010). La diversidad se calculó mediante el índice de Shannon-Weaver (H) que combina la riqueza y uniformidad en la distribución de la actividad catabólica (véase capítulo 2). La diversidad microbiana entre las diferentes secuencias de cultivo se comparó por medio de un ANOVA (Semmartin et al. 2010). A su vez, se relacionó la cantidad de biomasa y de la hojarasca propia de cada tipo de secuencia y el pH del suelo con la diversidad funcional microbiana mediante un análisis de regresión lineal. Finalmente, la diversidad funcional microbiana se comparó por medio de un análisis de varianza con la cantidad de hojarasca y el pH del suelo como covariables.

Los datos de respiración fueron analizados en un diseño factorial considerando como fuentes de variación el tipo de secuencia de cultivos al que fueron sometidos los suelos, el periodo de incubación (30, 60 y 90 días) y su interacción. Finalmente, relacionamos la diversidad microbiana con la tasa de respiración del suelo relativa (tasa de respiración del suelo de cada secuencia / tasa de respiración del suelo promedio del tiempo de incubación) para cada una de las fechas en un análisis de regresión lineal.

## 3.4 Resultados

El factor localidad no fue significativo para ninguna de las variables estudiadas en este capítulo ( $p > 0,05$ ) (Cuadro 3.2). Por el contrario, encontramos un efecto significativo del factor secuencia para la mayor parte de las variables estudiadas (hojarasca, composición y diversidad microbiana y pH del suelo) (Cuadro 3.2).

**Cuadro 3.2** Resultados del ANOVA (valores de F) del diseño anidado para las variables estimadas en parcelas sometidas a distinta secuencia de cultivos en tres localidades de la Pampa Ondulada (Junín, Pergamino y San Pedro). Los datos de biomasa aérea corresponden a la tesis doctoral en curso de José Andrade (EPG-FAUBA).

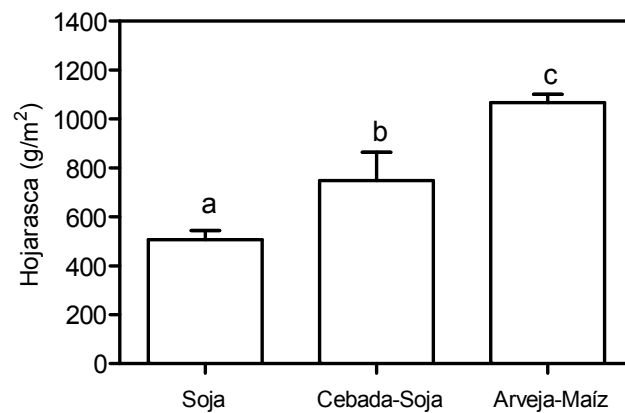
Variables	Fuentes de variación	
	Localidad	Localidad > Secuencia
Biomasa aérea (g/m <sup>2</sup> )	0,5	469***
Hojarasca (g/m <sup>2</sup> )	1,86	6,06**
pH suelo	2,99	3,81*
Diversidad microbiana (Índice de Shannon-Weaver)	1,99	4,61*
<i>k</i> trigo	0,74	0,44
Respiración suelo 30 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	0,38	2,16
Respiración suelo 60 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	0,25	1,18
Respiración suelo 90 días (mg CO <sub>2</sub> /m <sup>2</sup> .h)	0,25	0,71

Los grados de libertad del anidado (Localidad > Secuencia) y del error fueron 6 y 9, respectivamente.

\*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*  $P < 0,05$

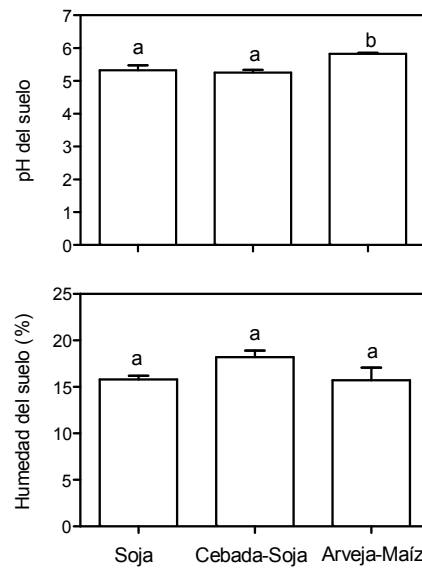
El tipo de secuencia de cultivo determinó diferencias en la cantidad de hojarasca y en algunos factores del ambiente físico. La secuencia que incluyó los cultivos de arveja-maíz durante el primer año del experimento mostró el doble de cantidad de hojarasca que las dos secuencias que incluyeron soja durante el primer año del experimento ( $F_{2,15} = 14,96$ ;  $p = 0,0003$ ) (Figura 3.2). Esta secuencia también presentó el pH más alto ( $F_{2,15} = 9,83$ ;  $p = 0,0019$ ) (Figura 3.3). El contenido de agua del suelo no difirió entre los suelos sometidos a diferentes secuencias de cultivo ( $p > 0,05$ ) (Figura 3.3).



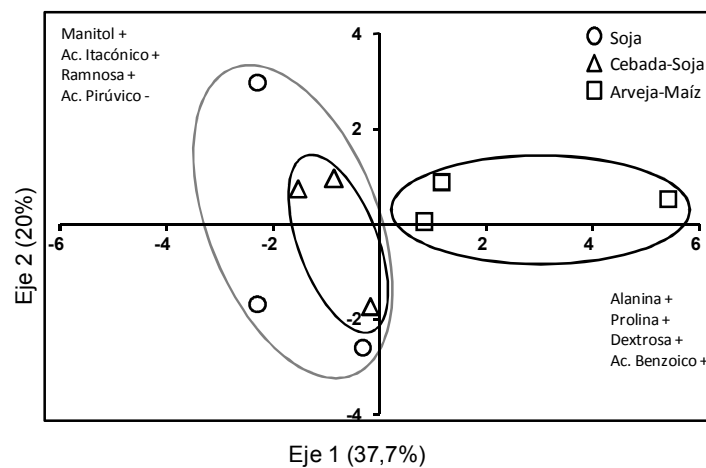


**Figura 3.2** Hojarasca producida en lotes agrícolas sometidos a distinta secuencia de cultivos en la Pampa Ondulada: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas entre secuencias (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

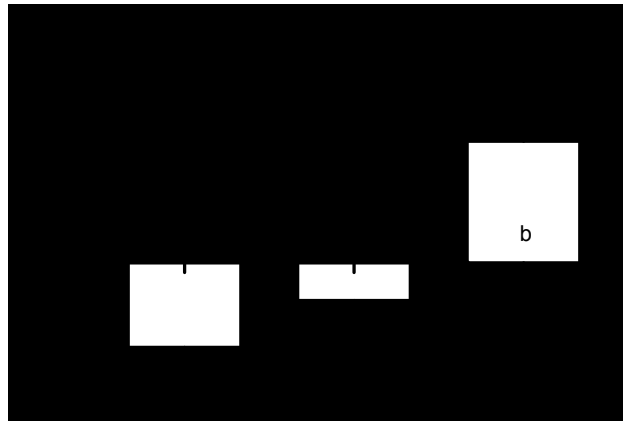
Los perfiles catabólicos de las bacterias del suelo también revelaron un patrón dependiente del tipo de secuencia de cultivos. La composición funcional de los suelos provenientes de la secuencia arveja-maíz en el primer año del experimento se diferenció de las otras. El eje principal (Eje 1) explicó el 37,7% de la varianza total de los datos y el segundo explicó el 20% (Figura 3.4). Este agrupamiento mostró diferencias significativas entre tipos de secuencias de cultivos cuando se comparó su posición en el primer eje del análisis de componentes principales ( $F_{2,15}= 6,41$ ;  $p= 0,0097$ ) (Figura 3.5). Las fuentes carbonadas que determinaron las diferencias entre las secuencias fueron principalmente alanina, prolina, dextrosa y ácido benzoico para el eje 1 del análisis, y ácido itacónico, manitol, ramnosa y ácido pirúvico para el eje 2.



**Figura 3.3** pH y contenido gravimétrico de humedad de suelos provenientes de lotes agrícolas sometidos a distinta secuencia de cultivos en la Pampa Ondulada: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas entre secuencias (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

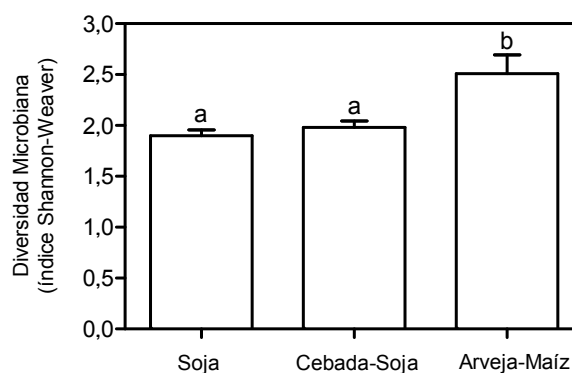


**Figura 3.4** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelo provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Cada punto representa la secuencia en cada una de las tres localidades estudiadas. Las fuentes de carbono en ambos ejes son las que presentaron mayor variación en el patrón de actividad bacteriana.

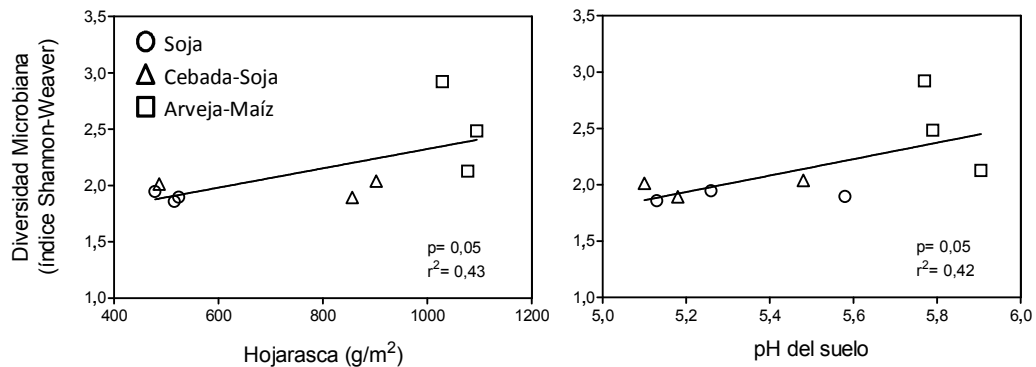


**Figura 3.5** Posición en el primer eje del ordenamiento de la figura 3.4 de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernadero-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

El índice de diversidad de Shannon-Weaver de los microorganismos difirió entre las secuencias de cultivos (Figura 3.6). La secuencia arveja-maíz mostró los mayores valores de diversidad mientras que las secuencias que incluyeron soja en el primer año del experimento mostraron menor diversidad metabólica ( $F_{2,15} = 8,04$ ;  $p = 0,0042$ ). A su vez, la diversidad se correlacionó positivamente con la cantidad de hojarasca y el pH del suelo y explicaron el 43 y 42% de su variación, respectivamente (Figura 3.7).



**Figura 3.6** Índice de Shannon-Weaver (H) de diversidad microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernadero-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha = 0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

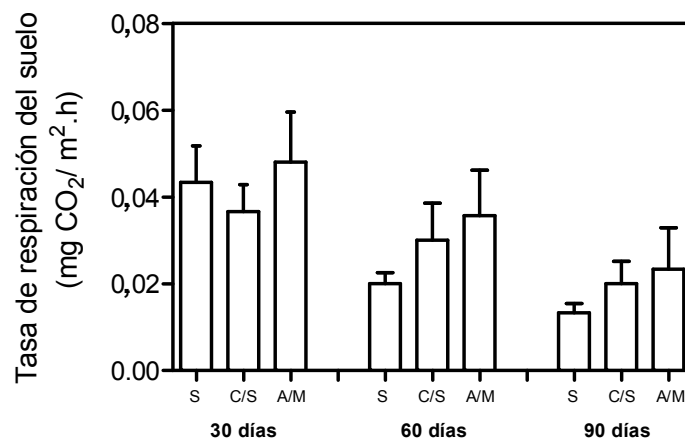


**Figura 3.7** Relación entre la diversidad microbiana, y la hojarasca y el pH del suelo. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon- Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos provenientes de diferentes secuencias de cultivos: sin cultivo invernoso-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Los puntos representan el promedio de las secuencias en cada localidad. Las líneas muestra la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados.

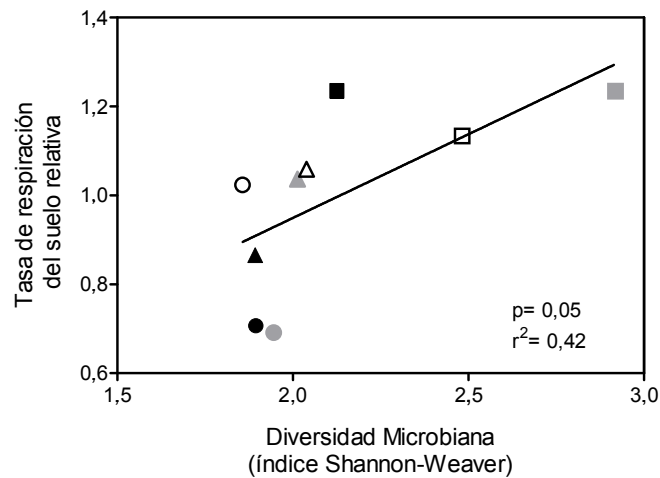
El experimento de descomposición bajo condiciones controladas mostró que las diferentes secuencias de cultivo no influenciaron ni las tasas de descomposición de la hojarasca ni las de respiración del suelo. Las tasas de descomposición de la hojarasca de trigo no difirieron entre los suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos ( $p > 0,05$ ; Figura 3.8). La tasa de respiración del suelo tampoco mostró una interacción significativa entre los suelos provenientes de las diferentes secuencias de cultivo y los períodos de incubación (Figura 3.9), pero sí encontramos un efecto del período de incubación. No obstante, encontramos que se correlacionó positivamente con la diversidad microbiana (30, 60 y 90 días) y explicó 42% de su variación (Figura 3.10). La mayor diversidad microbiana encontrada en el suelo sometido a la secuencia arveja-maíz se asoció positivamente con los mayores valores de de tasa de respiración relativa de esos suelos. Finalmente, la diferencias en diversidad funcional microbiana entre las secuencias desaparecen con la incorporación de la cantidad de hojarasca y el pH del suelo como covariables en el análisis de varianza ( $p > 0,05$ ).



**Figura 3.8** Tasa de descomposición ( $k$ ) de residuo de trigo a lo largo de 90 días, bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, en suelo provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernadero-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. Letras distintas indican diferencias significativas (LSD Fisher,  $\alpha=0,05$ ). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.



**Figura 3.9** Tasa de respiración de suelos provenientes de lotes bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernadero-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja, a los 30, 60 y 90 días de incubación. Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES. No se encontraron diferencias significativas entre las secuencias ni entre los períodos de incubación.



**Figura 3.10** Relación entre la diversidad microbiana, y la tasa de respiración del suelo relativa: tasa de respiración del suelo de cada secuencia / tasa de respiración del suelo promedio del tiempo de incubación de la hojarasca de trigo (todas las secuencias incluidas) para cada una de las fechas. La diversidad microbiana y la tasa de respiración corresponde a suelos provenientes de parcelas bajo diferentes secuencias de cultivos en la región pampeana: sin cultivo invernal-soja, cebada-soja y arveja-maíz, seguidas de una secuencia de trigo-soja. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver. Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados. Los símbolos blancos, grises y negros corresponden a los 30, 60 y 90 días de incubación, respectivamente.

### 3.5 Discusión

Este capítulo muestra que la siembra de diferentes secuencias de cultivos generó heterogeneidad en el suelo y modificó algunas de sus propiedades asociadas a diferencias en la calidad y cantidad de la hojarasca producida, y a cambios en las condiciones del ambiente edáfico (pH del suelo), aún después de haber experimentado una última campaña con la misma secuencia de cultivos (trigo-soja). La secuencia arveja-maíz combinó la mayor cantidad de hojarasca, y los mayores valores de pH y diversidad microbiana. La composición de la biota edáfica también mostró diferentes patrones de agrupamiento entre las secuencias que incluyeron en el primer año soja y la que no. En cambio, las tasas de descomposición de la hojarasca y de respiración del suelo no variaron entre las diferentes secuencias de cultivos si bien guardaron una relación positiva y significativa con la diversidad de la biota edáfica. En resumen, estos resultados muestran que la siembra de diferentes secuencias de cultivos deja una huella en el suelo, ya sea debido a una mayor producción de hojarasca o a cambios en algunos parámetros del suelo, que es posible detectar por la comunidad de la biota edáfica, incluso luego de un año de imponer

condiciones homogéneas para todas las parcelas, en este caso la secuencia trigo-soja durante el segundo año del experimento.

Los cambios en la estructura y diversidad funcional microbiana entre las diferentes secuencias fueron atribuibles al efecto de la identidad de los cultivos de la secuencia asociado con la producción de hojarasca. En este capítulo encontramos que los suelos provenientes de lotes que incluyeron la secuencia de cultivo arveja-maíz presentaron un 25% más de diversidad microbiana que los suelos de las secuencias que incluyeron soja en el primer año. A su vez, la cantidad de hojarasca explicó el 43% de la variación en diversidad microbiana hallada. Solo ocho fuentes carbonadas fueron responsables de la mayor variación entre las diferentes secuencias de cultivo (alanina, prolina, dextrosa, ácido benzoico, manitol, ácido itacónico, ramnosa y ácido pirúvico). El ácido carboxílico itacónico y el carbohidrato manitol fueron clasificados entre los 15 más efectivos de las 95 fuentes de carbono utilizadas para separar tratamientos de manejo como distintos tipos de labranzas y secuencias de cultivos por otros autores (Lupwayi et al. 1998, 1999, Govaerts et al. 2007). La perturbación del suelo debida a las labranzas es la práctica de manejo que más impacta sobre el contenido de carbono orgánico del suelo y su tasa de liberación para mantener la biomasa microbiana (Dick 1992). Por ejemplo, Balota y colaboradores (2003), encontraron que a pesar de que la inclusión de maíz en la secuencia de cultivos resultó en la entrada de más del doble de biomasa en comparación con soja o algodón, la labranza tuvo un efecto mucho mayor sobre la biomasa microbiana del suelo superficial.

En esta tesis, todos los cultivos considerados fueron cultivados bajo siembra directa, por lo que creemos que el mecanismo que explica estos resultados está relacionado con aumento en el número de nichos ecológicos disponibles para estas comunidades edáficas mediado por los aportes diferenciales de hojarasca entre las diferentes secuencias (cantidad y calidad) (Potthoff et al. 2006). Sin embargo, este estudio no ha considerado el aporte del sistema radical tanto en biomasa como de exudados radicales de las distintas especies y sus efectos sobre la comunidad microbiana. La alternancia de especies cultivadas que difieren en su composición bioquímica, en la calidad y cantidad de exudados radicales disponibles podría alterar la gama de compuestos orgánicos disponibles para las comunidades descomponedoras y, por lo tanto, la composición y función de las comunidades microbianas heterotróficas. El extenso sistema radical desarrollado y el gran volumen de materia orgánica aportado por el cultivo de maíz (Hanel 2003) durante el primer año potenciarían la diversidad y abundancia de la biota edáfica. Más aún, Stetson y colaboradores (2012) encontraron que la remoción del residuo de maíz en una rotación de cultivos de maíz-soja disminuyó la materia orgánica del horizonte superficial del suelo, la estabilidad de agregados del suelo, la relación C/N, y la actividad microbiana.

La incorporación de diferentes cultivos en las secuencias dejó una huella que fue posible describir a partir de la caracterización de la comunidad de la biota edáfica. Luego de un año de someter a las parcelas a un tratamiento homogéneo (segundo año del experimento), quedaron rastros de la identidad de los cultivos utilizados en el primer año de experimentos (arveja-maíz) que se evidenciaron a través de la composición y diversidad de la microbiota edáfica. Los resultados de este capítulo resultan relevantes en el contexto actual de la Pampa Ondulada en donde el cultivo de soja ocupa la mayor superficie cultivable de la región (Paruelo et al. 2005, Satorre 2005). Por otro lado, si bien su uso exclusivo podría eventualmente alterar, por ejemplo, la diversidad funcional microbiana, a largo plazo la incorporación de secuencias que incluyen especies leguminosas, además de cereales, pueden incrementar la cantidad de nitrógeno disponible en el suelo (Martín-Rueda et al. 2007, Sainju et al. 2007) y mantener niveles de materia orgánica más altos (Campbell et al. 1991, Campbell y Zentner 1993). En el caso de rotaciones que solo incluyen cereales (por ejemplo secuencia trigo-maíz), la evidencia indica que no afecta a la comunidad bacteriana (riqueza y la abundancia total de bacterias) (Navarro-Noya et al. 2013). Es decir que no es la incorporación de cultivos diversos lo que afectaría la diversidad de microorganismos, sino la identidad de los cultivos considerados mediante la generación condiciones micro ambientales diversas (por ejemplo, cambios en el pH del suelo).

La secuencia de cultivos provocó cambios en algunos factores del ambiente y en la diversidad funcional microbiana, pero no redundaron en cambios en la tasa de descomposición de la hojarasca y de respiración del suelo. Los suelos de los lotes que no incluían soja (uso del suelo predominante de la región) en el primer año del experimento mostraron valores de pH algo más neutros. La mayor diversidad microbiana hallada en los suelos sometidos a la secuencia arveja-maíz no aumentó la actividad metabólica de los microorganismos del suelo (i.e. tasas de descomposición y respiración del suelo), si bien ambas variables guardaron una relación positiva y significativa con la diversidad de la biota edáfica. Estos resultados coinciden con la idea aceptada de la existencia de alta redundancia en la biota del suelo (Whitman et al. 1998, Nannipieri y Badalucco 2003). La reducción o pérdida en cualquier grupo funcional de especies del suelo tendría un pequeño impacto sobre el proceso general de descomposición debido a que los microorganismos supervivientes pueden llevar a cabo el proceso (Andrén et al. 1995, Giller et al. 1997). Sin embargo, la asociación entre la respiración relativa y la diversidad microbiana muestra una diferencia significativamente mayor en los lotes sometidos a la secuencia arveja-maíz. Este resultado podría estar indicando que, si hubiese una pequeña diferencia entre las tasas de descomposición y respiración, es posible que no hayan podido ser detectadas por una baja potencia del análisis estadístico.

En un agroecosistema, la heterogeneidad entonces puede introducirse deliberadamente en el sistema agrícola para promover la biodiversidad y sus servicios



mediante el uso de diversas secuencias de cultivos. Se encontró que la incorporación de un solo cultivo diferente en la secuencia aumenta significativamente la diversidad funcional microbiana (4%), mientras que la inclusión de dos cultivos diferentes aumentó la diversidad un 26% respecto de secuencias sometidas al monocultivo. Estos resultados ponen de manifiesto que la incorporación de secuencias de cultivos diversas dentro de los lotes agrícolas, a escala de paisaje en la Pampa Ondulada, podría eventualmente contrarrestar parte del efecto negativo de la intensificación de la agricultura. Este trabajo aporta una nueva perspectiva para la conservación de la diversidad microbiana a escala de paisaje.

## CAPÍTULO 4

---

### INFLUENCIA DE LOS MÁRGENES NO CULTIVADOS SOBRE LOTES AGRÍCOLAS VECINOS

#### 4.1 Introducción

En los dos capítulos previos de resultados se mostró cómo la heterogeneidad espacial y temporal de la vegetación, dada por la combinación de lotes agrícolas y márgenes no cultivados y por la secuencia de diferentes cultivos, impacta diferencialmente sobre el contenido de carbono del suelo de la capa superficial, la descomposición de la hojarasca y la biota edáfica. Por un lado, se encontró que la presencia de márgenes sin cultivar con vegetación leñosa modifica la biomasa aérea, la hojarasca, el contenido de carbono del suelo y la diversidad funcional potencial de su comunidad de bacterias heterótrofas. Por otro lado, se encontró que la siembra de diferentes secuencias de cultivos también modifica algunas de estas mismas propiedades asociadas a la calidad y cantidad de la hojarasca producida por los cultivos, y a cambios en las condiciones del ambiente edáfico (pH del suelo). En este capítulo evaluamos la eventual presencia de procesos de influencia a lo largo de la interfase que conecta los márgenes sin cultivar con los lotes cultivados vecinos.

La configuración del mosaico agrícola, en particular la presencia de márgenes no cultivados, podría aportar un elemento clave para las comunidades del suelo de sus lotes cultivados vecinos. Como se mencionó en el capítulo introductorio, los márgenes no cultivados pueden actuar como refugio de especies animales y vegetales, generar gradientes en distintas propiedades del suelo y actuar como fuente de propágulos hacia los ambientes vecinos (Forman 1995, Burel et al. 1998). En la Pampa Ondulada, la evidencia empírica sugiere que los márgenes sin cultivar, herbáceos y leñosos, juegan un papel importante como reservorios de las comunidades de plantas y animales, respectivamente (Bilenca et al. 2007, de la Fuente et al. 2010, Poggio et al. 2010, Molina 2014). Es decir que, a pesar de la reducida proporción en área al paisaje y el intenso régimen de disturbios de los lotes cultivados, los márgenes no cultivados podrían contribuir a sostener servicios ecosistémicos deteriorados por la agricultura. La zona de transición entre los márgenes no cultivados y los cultivos determina la existencia de una interfase en la cual nuevas interacciones entre los factores bióticos y abióticos afectan a las comunidades allí presentes (Forman 1995, Baudry et al. 2000). Sin embargo, el efecto de esta zona de interfase sobre las comunidades que habitan por debajo del suelo ha sido poco estudiado. Caracterizar y entender estos eventuales flujos de influencia entre los márgenes y los lotes agrícolas proporciona un

enfoque valioso para comprender el impacto de la intensificación de la agricultura sobre las comunidades del suelo en estos agroecosistemas.

En el caso de las reservas y los flujos de carbono en el suelo tampoco tenemos evidencias sobre la posible función de los márgenes sobre sus áreas cultivadas vecinas. Los únicos registros disponibles provienen de agroecosistemas europeos en donde la superficie de margen representa una fracción mayor del total que en el paisaje pampeano. Estos estudios muestran áreas de mayor acumulación de carbono en el suelo, como la huella de setos de casi dos mil años, pero actualmente ausentes en el paisaje (Walter et al. 2003, Follain et al. 2007). Incluso, estudios en sistemas agroforestales han mostrado una disminución gradual del contenido de carbono del suelo en los primeros metros de la interfase con el pastizal circundante (Simón et al. 2013). En el capítulo 2 mostramos que diferentes tipos de vegetación tienen un impacto diferencial local en descomposición y el almacenamiento de carbono en el suelo debido a diferencias de calidad de la hojarasca entre otros factores. Sin embargo, no sabemos qué impacto tienen estos ambientes sobre las reservas y los flujos de carbono en el suelo cuando funcionan como márgenes dentro de la matriz agrícola. Este capítulo, precisamente, investiga las interfases de los distintos tipos de márgenes no cultivados (herbáceo y leñoso) con respecto a la situación control (cultivo–cultivo).

Aquí se evaluaron los efectos de los márgenes no cultivados sobre sus lotes agrícolas vecinos en el contenido de carbono en la capa superficial del suelo y la composición y diversidad de la biota edáfica. También se evaluó el papel de la descomposición como mecanismo parcialmente responsable de los posibles efectos de los márgenes sobre el contenido de carbono del suelo. Para ello, se identificaron pares de parches adyacentes de "margen no cultivado (herbáceo o leñoso) -lote de soja", y un tercer tipo "lote agrícola (soja o maíz)- lote de soja". Este último se incluyó como un control que representa la interfase agrícola-agrícola, es decir, la ausencia de margen no cultivado. A lo largo de las interfases entre estos pares de ambientes adyacentes se establecieron puntos de muestreo a lo largo de transectas perpendiculares desde los márgenes hacia los centros de los lotes de soja.

## 4.2. Objetivo

Analizar los efectos de la presencia de distintos tipos de márgenes no cultivados sobre el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la tasa de descomposición y la biota edáfica de los lotes cultivados aledaños.

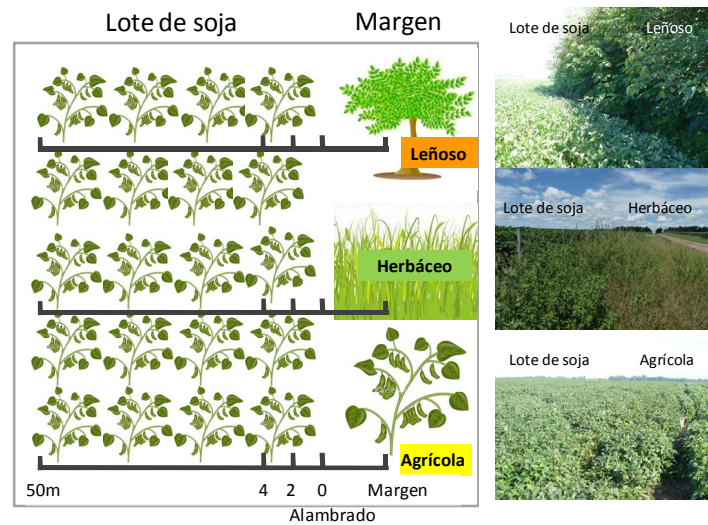
## 4.3. Hipótesis

Los márgenes herbáceos y leñosos contrastan estructural y funcionalmente con los lotes agrícolas vecinos y determinan procesos complejos de influencia de unos sobre otros. *Predicción: Los márgenes que presenten un mayor contraste estructural y funcional con sus lotes agrícolas vecinos tendrán una mayor influencia sobre estos últimos que se reflejará en el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, y en la estructura y funcionamiento de la biota edáfica a lo largo de la interfase margen-cultivo. A su vez, el efecto disminuirá a distancias crecientes del margen.*

## 4.4 Materiales y métodos

### 4.4.1 Diseño del experimento

El experimento descrito en este capítulo fue conducido únicamente en la localidad de Pergamino. Para evaluar el efecto de cada tipo de margen sobre los lotes agrícolas vecinos se seleccionaron lotes de 50 ha de tamaño promedio en un área de aproximadamente 15.000 hectáreas. Estos lotes estaban sembrados con soja y, a su vez, presentaban en alguno de sus márgenes una interfase con uno de los dos ambientes sin cultivar más representativos de la zona. Estos márgenes fueron el objeto de estudio y se describieron en el capítulo 2: (i) márgenes dominados por vegetación herbácea espontánea (margen herbáceo en adelante), y (ii) márgenes dominados por vegetación leñosa espontánea (margen leñoso en adelante). A su vez, se identificaron lotes de soja vecinos a otro lote agrícola (sembrado con soja o maíz) que representaron la situación control, es decir, la ausencia de margen (Figura 4.1).



**Figura 4.1.** Esquema del diseño experimental y vistas de los márgenes sin cultivar con vegetación permanente herbáceas o leñosa y los lotes de soja vecinos a otro lote agrícola. En cada uno de las interfases entre estos ambientes se muestrearon transectas de 50 metros desde el margen hacia el centro los lotes de soja vecinos.

Cada uno de los 15 lotes de soja seleccionados presentaba uno de sus límites vecino con alguno de los dos tipos de márgenes estudiados no cultivados (herbáceo o leñoso) o con otro lote agrícola ( $n=5$ ). Todos los lotes de soja tuvieron maíz como cultivo antecesor. Con el fin investigar los efectos a lo largo de la interfase margen-lote de soja, en cada unidad experimental (margen – lote de soja), se establecieron puntos de muestreo a lo largo de dos transectas perpendiculares desde el margen hacia los lotes de soja. Cada transecta se ubicó al azar en la interfase margen-lote, y separadas a 20 m de distancia una de la otra, evitando las esquinas, canales y cualquier otra discontinuidad del terreno (Poggio et al. 2010). Las muestras dentro de cada tipo de margen se tomaron aleatoriamente (véase capítulo 2), mientras que dentro de los lotes de soja se tomaron puntos a distancias crecientes desde el margen (alambrado) hacia el lote de soja: alambrado, 2 m, 4 m y 50 m. Las distancias fueron establecidas suponiendo *a priori* que los cambios en el carbono del suelo y la abundancia de especies de la micro biota del suelo ocurrirían más marcadamente en los micrositios más cercanos al alambrado que en los más alejados.

#### 4.4.2 Variables de respuesta

##### 4.4.3.1. Hojarasca y variables del suelo

La cantidad de hojarasca se determinó mediante la recolección de los restos vegetales depositados sobre la superficie del suelo, en abril, después de la cosecha de soja de los lotes

cultivados incluidos. Se recolectó el material a partir de seis marcos situados al azar de 0,4 x 0,4 m en todos los puntos de muestreo a lo largo de cada interfase margen - lote de soja. En cada punto de muestreo a lo largo de cada interfase, los suelos fueron evaluados a partir de cinco sub-muestras de suelo a una profundidad de 15 cm. Se midió el carbono orgánico total del suelo y el carbono lábil de la capa superficial del suelo. El carbono orgánico total se determinó mediante el método de Walkley Black y el carbono lábil se determinó por el método de fraccionamiento densimétrico (Richter et al. 1975). El pH del suelo se midió en laboratorio con un peachímetro electrónico en una solución agua:suelo 2,5:1.

#### 4.4.3.2. *Microorganismos del suelo*

El muestreo de *microorganismos del suelo* se realizó a partir de cinco sub-muestras de suelo tomadas a 10 cm de profundidad durante la primavera en cada punto a lo largo de la interfase margen-lote de soja (no se tomaron muestras debajo del alambrado) que se conservaron en la heladera (4°C) hasta su determinación. Para cada muestra de suelo se estimaron el perfil catabólico de los microorganismos del suelo y su diversidad funcional mediante la metodología de perfiles de utilización de fuentes carbonadas (Garland y Mills 1991) adaptada por Di Salvo y García de Salamone (2012) y descripta en el capítulo 2.

#### 4.4.3.3. *Tasas de descomposición*

Mediante un experimento de descomposición a campo se estimaron las tasas de descomposición de la hojarasca propia de cada margen y la de dos sustratos comunes (soja y maíz). Los sustratos comunes se utilizaron para aislar la influencia de las condiciones ambientales *in situ* (humedad, temperatura, contenido de carbono en el suelo) de aquellas intrínsecas de la hojarasca propia de cada margen (calidad) o bien de otras propiedades acumuladas en el suelo e influenciadas por el margen (contenido de materia orgánica).

Se recolectó hojarasca senescente de cada tipo de margen (herbáceo y leñoso), de los lotes agrícolas (control) y de lotes de soja y maíz que fueron utilizados como sustratos comunes. En los márgenes herbáceos y leñosos se recolectaron hojas y tallos senescentes de la comunidad vegetal presente, mientras que en los lotes agrícolas se recolectó solo hojas senescentes cuando el margen fue maíz, y hojas y tallos senescentes cuando el margen agrícola fue soja. Al igual que el procedimiento descripto en los capítulos previos, la hojarasca recolectada fue cortada en trozos de 5 cm de largo aproximadamente con el objetivo de simular la acción de la macrofauna del suelo (Seastedt 1984).

Se armaron bolsas de descomposición (de 15 x 15 cm para la hojarasca de los márgenes leñosos, y de 15 x 20 cm para el resto de la hojarasca, todas con 2 mm de malla

de fibra de vidrio) conteniendo 3 g de hojarasca secada al aire para cada tipo de margen y para los sustratos comunes. Para los márgenes leñosos, cuya hojarasca es más pesada que el resto de las hojarascas, se utilizaron 5 g de hojarasca secada al aire. La hojarasca de maíz y soja, utilizada como sustratos comunes, fue recolectada en lotes dentro del área de estudio pero en lotes diferentes a los utilizados como lotes agrícolas (tratamiento control).

Después de la cosecha de soja (abril), se ubicaron las bolsas correspondientes a cada tipo de hojarasca (del margen correspondiente y los dos sustratos comunes) en cada uno de los puntos de muestreo a lo largo de cada interfase margen-lote de soja (alambrado, 2 m, 4 m y 50 m). Previa a la instalación de las bolsas se removieron manualmente los residuos de cosecha del cultivo de soja con el objetivo de maximizar el contacto de las bolsas con el suelo. Además se fijaron al suelo con estacas y se cubrieron con el residuo de cultivo removido. En cada punto de muestreo se recolectaron cuatro bolsas de cada tipo de hojarasca a los 30 y 90 días de incubación. A partir de su peso se estimó la pérdida de masa en el tiempo. Además, se determinó el contenido de cenizas para estimar la contaminación con partículas de suelo (Harmon et al. 1999). La pérdida de masa en el tiempo fue estimada a partir de un modelo exponencial decreciente simple similar al descrito en los capítulos previos (Swift et al. 1979). A fin de no sobreestimar la tasa debido a pérdidas por manipuleo, se aplicó un factor de corrección utilizando el mismo protocolo descrito en los capítulos previos.



**Foto 4.1.** Bolsas de descomposición de hojarasca de márgenes, lotes agrícolas y estándares (soja y maíz) ubicadas en los micrositios de estudio a campo sobre las transectas margen leñoso-lote de soja (a) y lote agrícola-lote de soja (b) en la localidad de Pergamino.

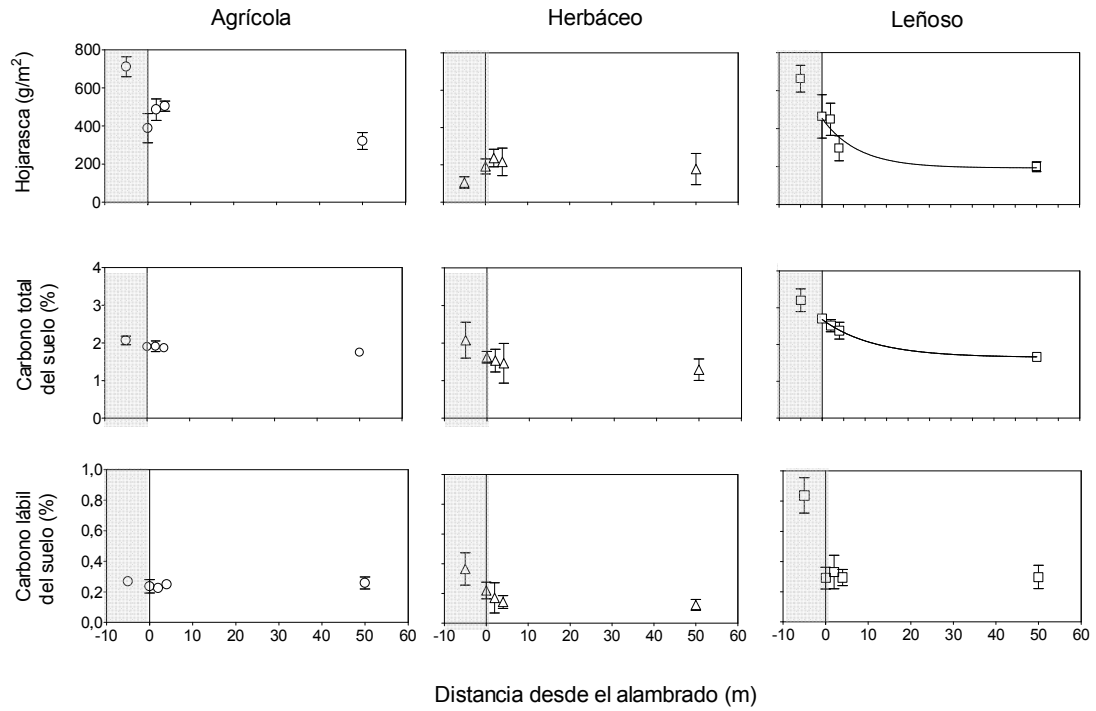
#### 4.4.4 Análisis estadísticos

Los efectos de los márgenes sobre las interfases margen-lote de soja se analizaron mediante regresiones lineales y no lineales para las variables hojarasca, carbono total y lábil del suelo y descomposición de la hojarasca propia del margen y sustratos comunes en función de la distancia desde el margen (alambrado). Los registros de absorbancia que caracterizan el perfil catabólico de la biota edáfica se analizaron mediante un PCA y se compararon los puntos en las distintas interfases margen-lote de soja y los centros de los lotes de soja con distinto margen por medio de un ANOVA de la posición de cada muestra sobre el primer eje del PCA (Semmartin et al. 2010). La diversidad se calculó mediante el índice de Shannon-Weaver (H) que combina la riqueza y uniformidad en la distribución de los perfiles catabólicos (véase capítulo 2). Comparamos la diversidad catabólica en las interfases margen-lote de soja y en los centros de los lotes de soja con distinto margen por medio de un ANOVA. Finalmente se relacionó la diversidad funcional de los microorganismos con el pH del suelo mediante un análisis de regresión.

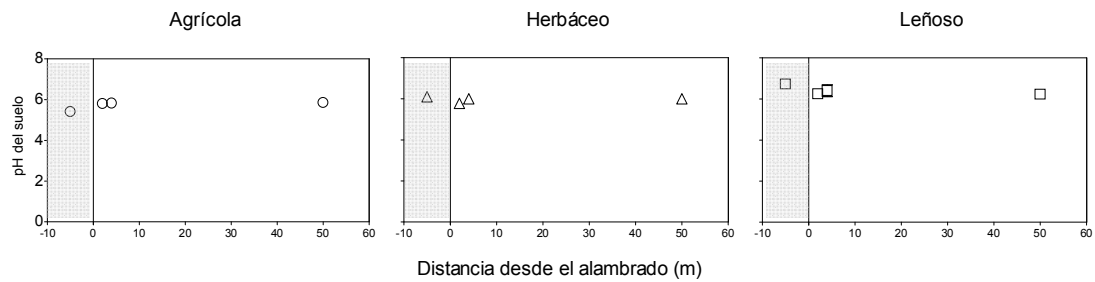
#### 4.5 Resultados

Los márgenes leñosos afectaron la cantidad de hojarasca y el contenido de carbono de suelo de las interfases con los lotes de soja vecinos (Figura 4.2). Tanto el contenido de carbono del suelo (total y lábil), como la hojarasca de la interfase del margen leñoso-lote de soja disminuyeron a medida que aumentó la distancia desde el margen hacia el centro del lote de soja. Por el contrario, las interfases de los márgenes herbáceos y lotes agrícolas fueron similares entre ellas y no mostraron un patrón espacial ( $p > 0,05$ ; Figura 4.2). Sin embargo, a pesar de que los márgenes leñosos influenciaron numerosas propiedades en los lotes de soja vecinos, los centros de los lotes de soja no fueron afectados por el tipo de margen vecino (Figura 4.2).





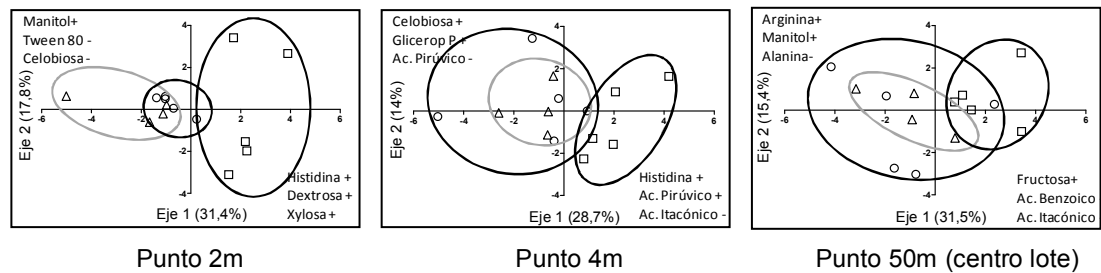
**Figura 4.2** Hojarasca, contenido de carbón total y carbón lábil del suelo a lo largo de la interfase margen-lote de soja de márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas (interfase agrícola-agrícola). El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los datos del margen (área sombreada) corresponden a los presentados en el capítulo 2. Los puntos corresponden a los valores medios ( $n=5$ ) y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES. Se aplicó una función con la forma  $y = \alpha * e(\beta * x)$ , donde  $y$  = hojarasca, el carbono total o el carbono lábil del suelo,  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes fijas y  $x$  = distancia.



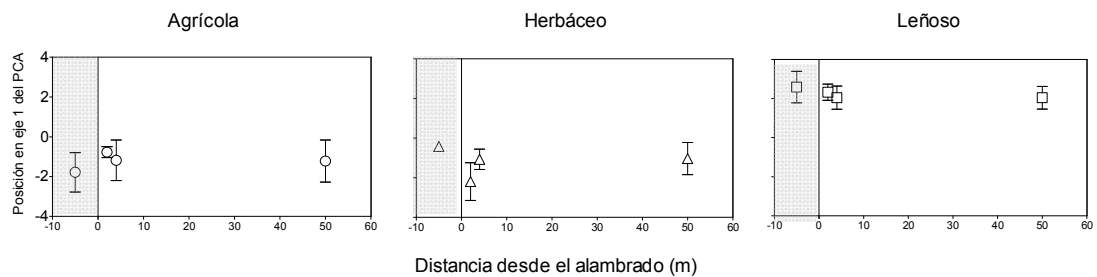
**Figura 4.3** pH del suelo a lo largo de la interfase margen-lote de soja de márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas (interfase agrícola-agrícola). El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los datos del margen (área sombreada) corresponden a los presentados en el capítulo 2. Los puntos corresponden a los valores medios ( $n=5$ ) y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

El pH del suelo mostró un patrón dependiente del tipo de margen solo a los 2 m (Figura 4.3). En este punto el pH de los suelos de los márgenes leñosos fue sutil pero significativamente más alto que el de los márgenes herbáceos y agrícolas ( $F_{2,11}=4,04$ ;  $p=0,02$ ). Si bien en los puntos de 4 y 50 m siguieron la misma tendencia, las diferencias no fueron significativas ( $p>0,05$ ; Figura 4.3).

Los perfiles catabólicos revelaron un patrón dependiente del tipo de margen en los primeros metros (2m y 4m) y en los centros de los lotes de soja (50 m) solo en las interfases entre los lotes agrícolas y los márgenes leñosos (Figura 4.4) (véase también capítulo 2). Los márgenes herbáceos, por el contrario, no tuvieron influencia sobre los lotes agrícolas vecinos y mostraron un comportamiento similar a las interfases lote agrícola-lote agrícola (Figura 4.4). Las fuentes carbonadas responsables de las diferencias en los patrones entre los distintos márgenes sin cultivar y lotes agrícolas variaron según el punto de muestreo (Figura 4.4). Este agrupamiento mostró diferencias significativas entre los tipos de interfase cuando comparamos su posición en el primer eje del análisis de componentes principales (Punto 2m:  $F_{2,11}=17,03$ ;  $p=0,0004$ . Punto 4m:  $F_{2,11}=5,76$ ;  $p=0,01$ . Punto 50m:  $F_{2,11}=4,84$ ;  $p=0,03$ ) (Figura 4.5).



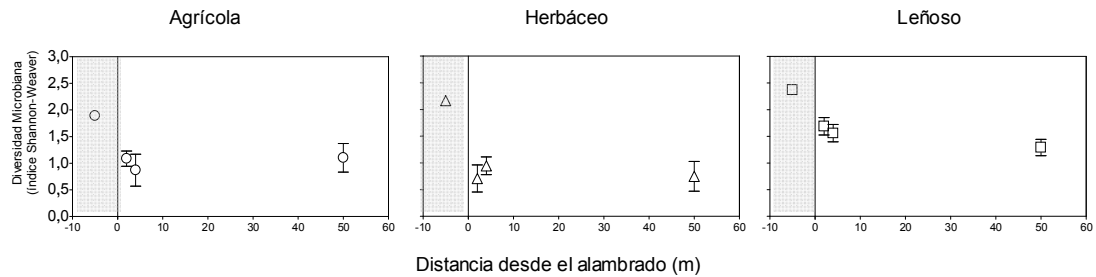
**Figura 4.4** Análisis de componentes principales de perfiles catabólicos de suelos provenientes de lotes de soja en los puntos 2, 4 y 50 m (centro de lote) de las interfases entre lotes de soja y tres tipos de márgenes: dos márgenes sin cultivar, herbáceo (triángulos) y leñoso (cuadrados), y un margen cultivado, agrícola (círculos). Las fuentes de carbono en ambos ejes son las que presentaron mayor variación en el patrón de actividad bacteriana.



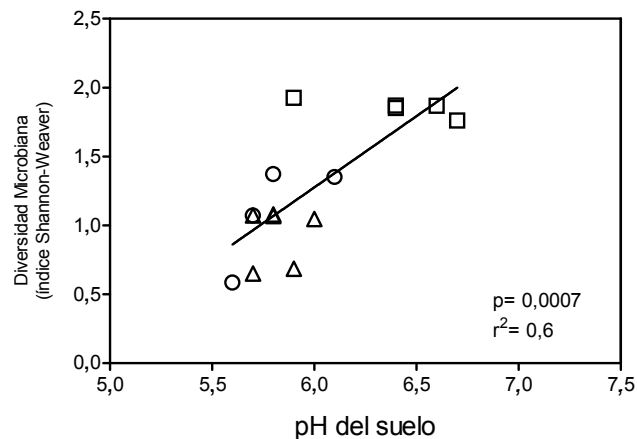
**Figura 4.5** Posición en el primer eje del ordenamiento de la figura 4.3 de suelos a lo largo de la interfase margen-lote de soja para los márgenes sin cultivar (herbáceo y leñoso) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación, y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios (n= 5). Las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

El índice de diversidad de Shannon-Weaver de los microorganismos difirió significativamente entre los tipos de interfase solo en el punto más cercano al margen, 2m ( $F_{2,11} = 7,19$ ;  $p = 0,01$ ), mientras que en los puntos 4m ( $F_{2,11} = 2,92$ ;  $p = 0,09$ ) y 50m ( $F_{2,11} = 2,04$ ;  $p = 0,17$ ) no encontramos diferencias significativas a pesar de que siguió la misma tendencia (Figura 4.6). Los puntos más cercanos al margen de las interfases margen leñoso-lote de soja mostraron los mayores valores de diversidad, mientras que no encontramos diferencias entre las interfases margen herbáceo-lote de soja y lote agrícola-lote de soja. A su vez, encontramos que la diversidad se correlacionó positivamente con el pH del suelo y representó el 60% de la variación en diversidad microbiana en el único punto dentro del

lote (punto 2 m) donde el patrón encontrado dependió del tipo de margen (Figura 4.7). En el resto de los puntos (4 y 50 m) no encontramos correlación para estas variables ( $p > 0,05$ ).



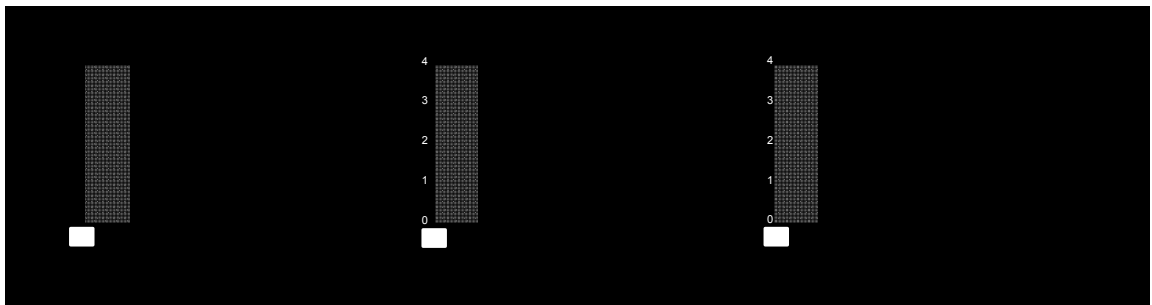
**Figura 4.6** Índice de Shannon- Weaver (H) de diversidad microbiana basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica de suelos a lo largo de la interfase margen-lote de soja para los márgenes sin cultivar (herbáceo y leñoso) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde a la zona de intersección (alambrado) entre diferentes fragmentos de vegetación, y el área hacia la izquierda (sombreado) y hacia la derecha corresponde a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.



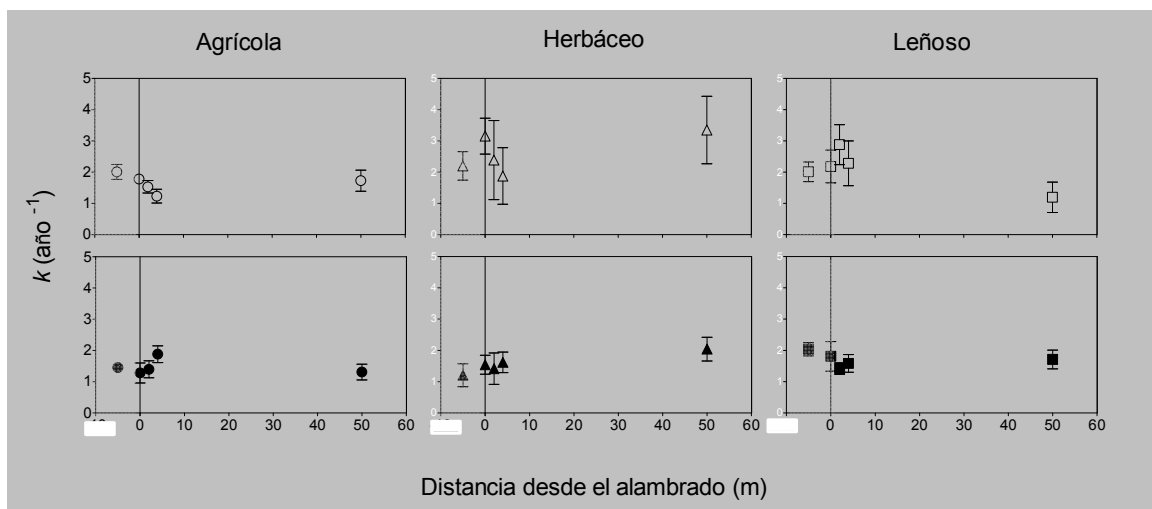
**Figura 4.7** Relación entre la diversidad microbiana y el pH del suelo de muestras obtenidas en el punto 2 m de las transectas margen-lote de soja. Los círculos corresponden con puntos 2 m de la transecta cultivo - lote de soja, los triángulos de las transectas margen herbáceo - lote de soja y los cuadrados margen leñoso - lotes de soja. La diversidad fue estimada mediante el índice de Shannon-Weaver (H) basado en 17 fuentes carbonadas metabolizadas por la biota bacteriana heterotrófica. Los puntos representan el promedio del punto 2 m de cada transecta entre los márgenes y lotes de soja. Las líneas muestran la recta de ajuste por el método de mínimos cuadrados.

Ni la descomposición de la hojarasca propia de los márgenes y los lotes cultivados, ni los sustratos comunes (soja y maíz) fue afectada por la posición (punto) a lo largo de las

interfases margen-lote de soja ( $p > 0,05$ ; Figura 4.8 y Figura 4.9). Tal como se documentó en el capítulo 2, la hojarasca de los márgenes leñosos se descompuso significativamente menos que la de los otros márgenes (Figura 4.8) y la de los márgenes herbáceos se descompuso más, denotando las diferencias encontradas en la calidad de la hojarasca. A su vez, la descomposición de los sustratos comunes (soja y maíz) no varió entre interfases (Figura 4.9).



**Figura 4.8** Tasa de descomposición ( $k$ ) de hojarasca de cada tipo de margen no cultivado (herbáceo y leñoso) y de lotes agrícolas en su correspondiente margen (área izquierda sombreada) y en lotes de soja (área derecha). El cero en el eje x corresponde con la zona de intersección entre diferentes tipos de vegetación, y el área izquierda sombreada y derecha corresponden a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n = 5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.



**Figura 4.9** Tasa de descomposición (k) de dos sustratos comunes: maíz (panel superior) y soja (panel inferior) a lo largo de la interfase margen-lote de soja para márgenes sin cultivar (herbáceos y leñosos) y lotes agrícolas. El cero en el eje x corresponde con la zona de intersección entre diferentes tipos de vegetación, y el área izquierda sombreada y derecha corresponden a puntos fuera (margen) y dentro de los lotes de soja (2, 4 y 50 m), respectivamente. Los puntos corresponden con los valores medios ( $n=5$ ), y las barras verticales indican  $\pm 1$  ES.

#### 4.6 Discusión

Los resultados presentados en este capítulo muestran que los márgenes no cultivados leñosos modificaron las reservas de carbono en el suelo, la cantidad de hojarasca, y la composición y diversidad de la biota edáfica de la interfase con los lotes cultivados vecinos. Estos márgenes, que combinaron la mayor cantidad de biomasa aérea y hojarasca, las mayores reservas de carbono en la capa superficial del suelo, la hojarasca de más lenta descomposición y la mayor diversidad funcional de la biota edáfica, fueron los únicos que influyeron significativamente a sus lotes de soja vecinos. A su vez, el efecto disminuyó desde el margen (alambrado) hacia el centro del lote. Por el contrario, los márgenes herbáceos, que habían mostrado menores reservas de carbono en la capa superficial del suelo que la situación control (lotes agrícolas), menor cantidad de biomasa aérea y hojarasca, un valor intermedio de diversidad funcional de la biota edáfica entre los márgenes leñosos y los lotes agrícolas, no tuvieron ninguna influencia sobre sus lotes vecinos. Las diferencias en las tasas de descomposición de la hojarasca encontradas se relacionaron exclusivamente con la calidad de la hojarasca, ya que ni las tasas de descomposición de los sustratos comunes ni la de los sustratos propios de cada tipo de margen variaron por su posición (punto) a lo largo de la interfase margen - lote. En conclusión, los resultados obtenidos sugieren que los márgenes leñosos representan el único elemento actual del paisaje con potencial para influir positivamente sobre el contenido de carbono de la capa superficial del suelo y en la diversidad funcional de la biota edáfica de los lotes agrícolas vecinos en la Pampa Ondulada. Esta función pareciera estar dada por las diferencias en las ganancias de carbono (biomasa y hojarasca), por las menores pérdidas durante la descomposición de la hojarasca y por condiciones edáficas específicas (pH del suelo) mediadas por los distintos tipos de vegetación.

Los márgenes leñosos mostraron una influencia significativa sobre el contenido de carbono total de la capa superficial del suelo y la hojarasca de los primeros metros de interfase con sus lotes de soja vecinos. Los hallazgos muestran que la influencia disminuyó a medida que la distancia desde el margen (alambrado) aumentó. Estos resultados son esperables ya que el área de interfase entre estos dos tipos de vegetación está sometido al mismo régimen y frecuencia de disturbios que los centros de los lotes producto de las

labores agrícolas, pero además son física y biológicamente influenciados por sus márgenes no cultivados vecinos (Poggio et al. 2010). Estudios previos muestran que en sistemas agroforestales el carbono del suelo disminuye un 60% en una distancia de 8 metros desde los árboles más cercanos (Simón et al. 2013). Los resultados de este capítulo muestran que, en la Pampa Ondulada, los márgenes no cultivados con vegetación leñosa también tienen un efecto sobre la transferencia de materia (carbono) hacia los lotes cultivados vecinos. Los resultados de esta tesis muestran que en los primeros metros (2 y 4 m) la caída en el contenido de carbono es del 25% respecto del margen. Si bien las distancias muestreadas en este estudio y el de Simón y colaboradores (2013) difieren, los contenidos de carbono debajo de los árboles en ambos casos rondan el 3%, y en este estudio en el punto muestreado más lejano del margen (50 m), el contenido de carbono es de 1,5%, lo que representa un 50% menos que dentro del margen leñoso. Esto indica por un lado, que la conservación de parches con vegetación leñosa puede tener una influencia más allá de sus límites, incluso en paisajes donde estos elementos no cultivados constituyen un grupo minoritario. Por otro lado, a pesar de que algunos estudios muestran que el contenido de carbono de los suelos en la pampa Ondulada ha disminuido producto de la intensificación de la agricultura, los suelos destinados a uso agrícola en esta región muestran contenidos superiores a otras regiones agrícolas en el mundo que rondan el 1,2 % (Freibauer et al. 2004).

Los márgenes herbáceos no influyeron sobre el contenido de carbono total del suelo y la diversidad funcional de la biota edáfica en los lotes cultivados vecinos. En la Pampa Ondulada, muchas de las especies características del pastizal original fueron encontradas con mayor frecuencia en los alambrados que en el interior de los lotes (Poggio et al. 2010), por lo que los alambrados funcionarían como refugio de especies del pastizal nativo en este tipo de paisajes. Más aún, se encontró que a escala de paisaje, la riqueza de especies de plantas aumenta a medida que aumenta la cantidad de parches no cultivados con vegetación herbácea (Poggio et al. 2010). Estos resultados sugieren que estas reducciones de riqueza y abundancia vegetal observadas a escala de parche desde los márgenes herbáceos hacia los lotes cultivados vecinos probablemente no son lo suficientemente fuertes como para dejar una huella en el carbono del suelo. Tal como se discutió en el capítulo 2, el manejo al que están sometidos estos márgenes (fundamentalmente el uso de herbicidas) explicaría la falta de efecto de este tipo de margen mediado por las alteraciones producidas en la composición de la comunidad vegetal, ya que en la actualidad se encuentran dominados por plantas anuales. La ausencia del disturbio (herbicida) podría eventualmente permitir al sistema recuperar las especies nativas perennes presentes en el paisaje original (Soriano et al. 1991) y, por ende, mejorar su participación en la acumulación de carbono en el suelo en el paisaje.

Los efectos de los márgenes leñosos sobre el carbono en el suelo de los lotes de soja vecinos fueron parcialmente mediados por las diferencias la cantidad y calidad de la hojarasca, y su consecuente variación en la dinámica de pérdida de masa durante la descomposición. Estudios previos en sistemas agroforestales de ambientes áridos y semiáridos muestran que el suelo bajo la copa de los árboles presenta mayores contenidos de carbono orgánico que las zonas abiertas, pero proponen que estas diferencias se deberían al efecto de la proyección de las copas de los árboles sobre el crecimiento de la vegetación herbácea del sotobosque adyacente, mediado por cambios en la dinámica del agua, los nutrientes, la temperatura, y la cantidad y calidad de la luz (Gallardo 2003, Moreno 2008, Simón et al. 2013). Sin embargo, el patrón de distribución del carbono puede deberse a factores que no dependen directamente de las características del árbol, tales como la textura, estructura y el pH del suelo o la disponibilidad de agua (Kirschbaum 2003). En este capítulo encontramos que la diversidad de la comunidad microbiana hallada en los primeros metros de los márgenes leñosos (2 m) estuvo fuertemente correlacionada con propiedades específicas del suelo como el pH. De esta manera, esta tesis contribuye con evidencia empírica de que parte de los efectos sobre las propiedades del suelo en las zonas adyacentes a los ambientes leñosos también está mediado por derrame de hojarasca de estos ambientes sobre los lotes agrícolas (calidad). Este aporte de hojarasca de diferentes calidades determina cambios en las tasas de descomposición de la hojarasca y en el pH del suelo que afectan la acumulación del carbono y la actividad y diversidad de la comunidad microbiana edáfica (Simón et al. 2013). Teniendo en cuenta que los márgenes leñosos presentan diferencias en algunos parámetros del suelo, en la acumulación de carbono en la capa superficial del suelo y en la diversidad funcional microbiana, la descripción del patrón de distribución espacial del carbono del suelo de la capa superficial influenciado por la presencia de márgenes leñosos resulta de gran interés para el diseño de estrategias de conservación de carbono en estos sistemas.

La diversidad hallada en la microbiota edáfica sugiere que su distribución no es aleatoria, sino que está espacialmente estructurada y los patrones espaciales están relacionados con la presencia de márgenes leñosos. Estos márgenes fueron los únicos que mostraron un efecto de derrame sobre los lotes de soja vecinos en la diversidad funcional microbiana. El aporte de hojarasca de estos márgenes sobre los lotes agrícolas, y su impacto sobre la calidad de hojarasca y el pH del suelo explicarían el aumento de la diversidad microbiana y de la acumulación de carbono en los primeros metros de las interfases con los lotes cultivados. Por un lado, la calidad de la hojarasca es un factor clave para la regulación de la composición bacteriana y fúngica de una comunidad microbiana del suelo (Swift et al., 1979). Los resultados de esta tesis sugieren que los patrones de acumulación de hojarasca a partir de la presencia de márgenes leñosos aporta heterogeneidad temporal y espacial en el lote cultivado vecino (por ejemplo, mediante el alto contenido de lignina de su hojarasca)



que afecta la estructura y funcionamiento de su comunidad microbiana y afectan la acumulación de carbono en el suelo. Por otro lado, un estudio reciente en pastizales uruguayos muestra cómo la forestación con Eucaliptus, mediante cambios en el pH del suelo asociados a la calidad de su hojarasca rica en compuestos fenólicos, altera la abundancia de genes funcionales microbianos. Por ejemplo, los genes asociados a la degradación de carbono disminuyeron un 1,5% en las plantaciones, en coincidencia con un 54% más de carbono en el suelo (Berthrong et al. 2009). Más aún, otros autores encontraron que los parches leñosos presentan una influencia sobre lotes agrícolas vecinos hasta una distancia de 20 metros (Saetre y Bååth 2000). En el agroecosistema de la Pampa Ondulada, si bien el aporte de hojarasca en los primeros metros de la interfase podría eventualmente estar actuando además como vector para la dispersión microbiana, la ausencia de una huella más allá de los primeros metros podría estar limitada por la competencia con las poblaciones de los lotes cultivados, mejor adaptadas a las condiciones de disturbio intenso (Martiny et al. 2006). Por ejemplo, altos niveles de fertilización dentro de los lotes agrícolas disminuyen la diversidad de la comunidad microbiana y aumenta la dominancia de algunos grupos adaptados al uso de altos contenidos de nitrógeno mineral (Jangid et al. 2008).

En conclusión, cada uno de estos elementos sin cultivar que componen el paisaje tienen características estructurales y fisonómicas particulares que determinan diferentes niveles de contraste con los lotes cultivados (Forman 1995). Actualmente, los márgenes leñosos representan el único elemento en el paisaje de la Pampa Ondulada con potencial para establecer una zona de transición con el cultivo que funcione como fuente de diversidad microbiana y materia (carbono) debido a las características de su comunidad vegetal. El manejo al que están sometidos los márgenes y los lotes cultivados deberá estar orientado a mejorar su interacción para favorecer las transferencias de materia y diversidad entre los ambientes cultivados y no cultivados que conforman el mosaico agrícola pampeano (Tscharntke et al. 2005).

## CAPÍTULO 5

---

### DISCUSIÓN GENERAL

El propósito general de esta tesis doctoral fue analizar las diferencias en los contenidos de carbono de la capa superficial del suelo, la biota edáfica y la tasa de descomposición entre distintos tipos de márgenes no cultivados dominados por vegetación perenne (herbácea y leñosa) y los lotes agrícolas, en sus interfases y entre lotes con y sin variabilidad temporal en los cultivos (diferentes secuencias). Estos factores resultan críticos para el funcionamiento de los ecosistemas ya que, en última instancia, controlan la provisión de bienes y los servicios de sostén y regulación de gases de la atmósfera. La motivación que me llevó a formular las preguntas específicas y la aproximación experimental surgió a partir de los vacíos de conocimiento sobre el papel que desempeñan los ambientes no cultivados en los agroecosistemas y la secuencia de cultivos respecto del carbono edáfico y de la diversidad funcional microbiana.

Los resultados de esta tesis muestran que la presencia de elementos no cultivados en el paisaje y las secuencias de cultivos impactan sobre el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, y la composición y diversidad funcional de la biota edáfica. Se presentó evidencia que muestra que los márgenes sin cultivar vegetados por especies leñosas representan el único elemento actual del paisaje con una superficie limitada aunque efectiva para mitigar las pérdidas de carbono de la capa superficial de suelo de los lotes cultivados en este agroecosistema. A su vez, se mostró que los márgenes sin cultivar, herbáceos y leñosos, constituyen reservorios de diversidad funcional de la microbiota edáfica (Capítulo 2) y que los leñosos, además, ejercen una influencia sobre los primeros metros de la interfase con los lotes cultivados vecinos (Capítulo 4). Si bien la siembra de diferentes secuencias de cultivos no modificó la velocidad de mineralización de los residuos, dejó una huella detectable en la composición funcional de la microbiota edáfica, incluso después de la acción supuestamente homogeneizadora de una secuencia de cultivos similar (Capítulo 3). De esta manera, la diversidad funcional de la biota edáfica en un paisaje dependió de la presencia de elementos no cultivados y de la secuencia de cultivos. El objetivo primordial de este capítulo final es integrar las ideas en una discusión de los resultados principales que destaque la contribución de esta tesis al conocimiento.

### 5.1. Los aportes de esta tesis al conocimiento

La expansión e intensificación de la agricultura constituyen el motor central del cambio en el uso del suelo a nivel global y regional y representan un desafío para la conservación de los servicios ecosistémicos. El fenómeno de agriculturización ha provocado las alteraciones más notables en los ciclos biogeoquímicos, en la dispersión de la biota y en la biodiversidad (Chapin et al. 2000, Norris 2008). Los primeros esfuerzos para contrarrestar estos efectos se orientaron a la protección de la naturaleza mediante la conservación de tierras en forma de reservas naturales y parques (Gaston et al. 2002). Sin embargo, la fragmentación del hábitat y el tamaño pequeño de muchas áreas protegidas no alcanzó a evitar extinciones locales (Brashares et al. 2001). Una nueva aproximación propuso la conservación de las especies y comunidades dentro de los agroecosistemas (McLaughlin y Mineau 1995, Fischer et al. 2006), partiendo de la concepción de que es compatible el uso productivo de los ecosistemas y la conservación de su diversidad (Schroth et al. 2004).

El paisaje agrícola actual ofrece, entonces, la coexistencia de elementos de origen natural (parches sin cultivar, márgenes) y antrópico (lotes de cultivo) que aportan heterogeneidad espacial al sistema (Bennett et al. 2006) y ofrecen una variedad de hábitats para especies animales y vegetales (Forman 1995). De esta manera, a las áreas no cultivadas, que en el pasado se utilizaban para delinear la propiedad de la tierra, proveer leña y proteger del viento (Marshall y Moonen 2002), se les reconocen ahora nuevas funciones. El control de la contaminación y eutrofización de cuerpos de agua interceptando los flujos de agua con pesticidas y nutrientes, la provisión de refugio, hábitat y corredor para numerosas especies silvestres son algunos ejemplos de estas nuevas funciones (Marshall y Moonen 2002). A su vez, la zona de transición entre estos dos tipos de ambiente (cultivados y no cultivados) determina la existencia de una interfase o ecotono en la cual nuevas interacciones entre los factores bióticos y abióticos afectan a las comunidades allí presentes (Forman 1995, Baudry et al. 2000). Inicialmente, los parches sin cultivar eran percibidos negativamente por su contribución a las poblaciones de malezas, enfermedades y plagas (Marshall y Moonen 2002). El nuevo enfoque propone entender cómo estos hábitats benefician a los cultivos adyacentes, y en qué medida pueden mejorar la producción agrícola y contribuir a la conservación del ambiente simultáneamente. Esta tesis resulta novedosa en este contexto ya que muestra funciones de estos márgenes sin cultivar, asociadas a la transferencia y acumulación de carbono del suelo y a la diversidad funcional de la microbiota edáfica, que prácticamente no habían sido consideradas en este contexto. A partir de los datos obtenidos por esta tesis no es posible realizar una cuantificación de los beneficios que estas áreas no cultivadas le aportan a los lotes agrícolas (por ejemplo, a través de mejoras en los rendimientos de los cultivos). De todas maneras, resulta evidente que los beneficios serán alcanzados en la escala de paisaje, y no mediante relaciones puntuales que se establezcan entre cada tipo de margen no cultivado y su vecino

cultivado. Si bien se encontró un efecto derrame de los márgenes vegetados por especies leñosas sobre los lotes cultivados vecinos, este efecto fue solo en los primeros metros de la interfase margen-lote. A su vez, estas áreas no cultivadas solo representan entre el 1 y 2% del paisaje por lo que son pocos los lotes agrícolas que cuentan con un amplio perímetro de influencia con estas áreas. Por el contrario, el valor de la conservación de las áreas no cultivadas reside en su efecto como reservorio de diversidad de especies y servicios que se encuentran degradados dentro de los lotes agrícola a escala de paisaje.

La presencia de márgenes sin cultivar con vegetación perenne dentro del paisaje agrícola de la Pampa Ondulada modifica sus propias reservas de carbono en la biomasa aérea, en la hojarasca, en el suelo y en la diversidad funcional potencial de la comunidad de bacterias heterótrofas del suelo. La proporción de la superficie de margen con respecto a la cultivada en los ecosistemas pampeanos es mucho menor que la de otros sistemas. Aún así, la evidencia muestra que su presencia afecta la estructura de las comunidades de malezas, artrópodos y pequeños mamíferos (Bilenca et al. 2007, de la Fuente et al. 2006, 2010, Poggio et al. 2011). Las ideas de esta tesis avanzaron en la comprensión del papel de estos parches con vegetación espontánea cuando son considerados márgenes de cultivos dentro del paisaje agrícola de la Pampa Ondulada. Los márgenes dominados por vegetación leñosa jugaron un papel fundamental en la acumulación local de carbono en la capa superficial del suelo, mientras que los suelos de los márgenes herbáceos mostraron contenidos inferiores a los de los lotes cultivados, que representan la situación dominante. El objetivo central de esta tesis no es establecer herramientas de manejo que apunten a explicar posibles cambios en la proporción de ocupan estas áreas no cultivadas a fin de alterar su influencia en el sistema. Resulta valiosa la caracterización que se realiza en esta tesis de los ambientes no cultivados y cultivados, que muestran que tanto las áreas sin cultivar (tanto herbáceas como leñosas), como el uso de diversas secuencias de cultivo, funcionan como reservorios de diversidad funcional microbiana en el paisaje. A la hora de considerar los datos obtenidos en esta tesis, como eventuales elementos para la planificación de un manejo agrícola a escala regional, serán necesarios estudios que consideren la dimensión espacial en la distribución y proporción que ocupan estas áreas sin cultivar en el paisaje.

El impacto negativo de la intensificación agrícola a la escala de lote es un fenómeno ampliamente descripto. Si bien sabemos que las reducciones del carbono del suelo de la región pampeana rondan del 20 a 35% (Álvarez et al. 2009, Caride et al. 2012), esta tesis aporta las primeras evidencias a escala de paisaje sobre el papel potencial que podrían tener los márgenes con vegetación leñosa, sobre sus propias existencias de carbono y sobre la de los lotes vecinos cultivados. El desconocimiento de los intercambios de carbono entre los lotes cultivados y sus márgenes no cultivados se evidencia en que los intentos por conservar el carbono del suelo de los sistemas agrícolas han operado únicamente en la escala de lote. El cambio en el sistema de labranza y el mantenimiento del residuo de cultivo en superficie

con el objetivo de disminuir las pérdidas por erosión son ejemplos de esta aproximación (Álvarez 2005, Baker et al. 2007). Esta tesis provee evidencia de que el ciclado de carbono en los lotes cultivados no solo se ve afectado por el manejo de los lotes en sí mismos, sino que también puede estar influenciado por las características de los elementos que rodean a esos lotes. Unas pocas evidencias revelan que las áreas no cultivadas en los paisajes agrícolas europeos funcionarían como reservorios de carbono del suelo (Walter et al. 2003, Follain et al. 2007), con un efecto que se disminuye gradualmente al alejarse del parche no cultivado (Simón et al. 2013). Esta tesis contribuye a esta corta lista de evidencia empírica y muestra que aún en un ambiente como la Pampa Ondulada, donde las áreas no cultivadas representan una superficie pequeña en el paisaje, tienen un potencial detectable para mitigar las pérdidas de carbono del suelo de lotes agrícolas vecinos. Los resultados presentados en esta tesis también sugieren la necesidad de rediseñar las estrategias de manejo actuales de los márgenes sin cultivar vegetados por especies herbáceas a fin fortalecer su potencial para secuestrar carbono y para conservar diversidad de la biota edáfica.

La consideración de la heterogeneidad temporal, dada por el manejo de los lotes cultivados a escala de paisaje, ha sido poco explorada en relación con su impacto sobre la composición y funcionamiento de la biota edáfica (Marshall et al. 2003, Schmidt et al. 2005, Bennett et al. 2006). Numerosos estudios han mostrado que las distintas labores a las cuales están sometidos los lotes agrícolas, como el uso de diferentes secuencias de cultivos, su fenología y su disposición espacial, así como las técnicas de labranza y los niveles de fertilización son una fuente de heterogeneidad (Bardgett y McAlister 1999, Bardgett y Shine 1999, Zak et al. 2003, Knorr et al. 2005, Davidson y Janssens 2006, Alvarez y Steinbach 2009, Luo et al. 2010). Sin embargo, estos efectos han sido explorados fundamentalmente a escala de lote. Sabemos que la calidad y cantidad de la hojarasca influyen sobre el microambiente edáfico, la composición de su biota, la dinámica del carbono y los nutrientes minerales durante la descomposición. A su vez, la agricultura afecta las comunidades de microorganismos del suelo mediante alteraciones de las propiedades físicas y químicas del suelo (Jangid et al. 2008, Lauber et al. 2008, Fierer et al. 2009) y del residuo vegetal que se descompone (Zhang et al. 2008). En este contexto, esta tesis propone un enfoque novedoso al considerar a la heterogeneidad aportada por diferentes secuencias de cultivo como una herramienta que puede favorecer la conservación de funciones microbianas a escala de paisaje. Se mostró que, si bien la siembra de diferentes secuencias de cultivos, no modificó la capacidad total de la comunidad de microorganismos descomponedores para mineralizar los residuos, sí dejó una huella detectable como cambios en su composición funcional.

La composición de la biota edáfica y la velocidad a la que descompone los residuos vegetales es una función de la relación C/N y del contenido de lignina de los tejidos vegetales, de la humedad y de la temperatura. Otras variables relevantes como el contenido

de nutrientes del suelo o el pH han mostrado una influencia menos consistente sobre este proceso (Knorr et al. 2005, Zhang et al. 2008), aunque mucho más consistente sobre la composición y diversidad de la biota edáfica (Fierer y Jackson 2006). En coincidencia con evidencias previas, los resultados de esta tesis mostraron que la calidad de la hojarasca es un buen predictor de las tasas de descomposición. Al mismo tiempo, mostraron que los cambios debidos a la heterogeneidad espacial (tipos de márgenes no cultivados) imprimieron una variación más amplia en la cantidad y calidad de la hojarasca producida, sobre la descomposición y sobre la composición y diversidad microbiana que la heterogeneidad temporal (tipos de cultivos). Esta tesis también mostró que el pH del suelo parece ser un buen predictor de diversidad microbiana, aún en un rango muy estrecho de condiciones, y que su variación es sensible tanto a la heterogeneidad aportada por los márgenes no cultivados como por la secuencia de cultivos dentro de los lotes cultivados.

Conocer la distribución espacial de los organismos del suelo es relevante para entender y cuantificar los factores que controlan la circulación del carbono y los nutrientes en el suelo (Figuerola et al. 2012, Fierer et al. 2013). Sin embargo, los estudios empíricos y los modelos en Ecología se han centrado en la biota por encima del suelo. Por debajo del suelo, estos modelos se han limitado a investigar características abióticas como la humedad y contenidos de nutrientes del suelo (Ettema y Wardle 2002). Los disturbios producto de la agricultura, que determinan un sistema altamente transitorio, son de escala local. Sin embargo, estos disturbios son el resultado de procesos como los cambios en el uso del suelo y la fragmentación del paisaje que operan a mayores escalas (Schroth et al. 2004, Brussaard et al. 2007, Fierer et al. 2013). A pesar de que en la actualidad no existe consenso acerca de si la pérdida de diversidad de la biota edáfica afecta negativamente el funcionamiento de los ecosistemas, sí sabemos que cambios en la estructura de la cadena trófica y en las interacciones entre los niveles tróficos reducen la estabilidad del sistema (Dunne et al. 2002). La conservación de áreas no cultivadas en el paisaje y el diseño de secuencias particulares de cultivos aumentan la heterogeneidad del suelo y promueve la convivencia de especies que de otra manera competirían unas con otras (Chesson 2000). En este sentido, esta tesis propone que si existiesen procesos de exclusión competitiva a escala local, por ejemplo dentro de los lotes o márgenes sin cultivar, estos podrían ser compensados a escala de paisaje por la dispersión en el espacio o en el tiempo y la heterogeneidad de los recursos.

La mayor parte de los organismos del suelo tiene una capacidad limitada (de milímetros a centímetros) para el movimiento activo (Marinissen y van den Bosch 1992, Korthals et al. 2001) y mayor para el movimiento pasivo, por ejemplo mediante el desplazamiento de la hojarasca (Finlay 2002). Esto significa que el cambio en el uso de suelo en paisajes fragmentados como el de la Pampa Ondulada determina que los refugios que contienen dispersores pasivos (márgenes) y las secuencias de cultivos que promuevan distintos grupos de microorganismos son fundamentales para la restauración y conservación

del funcionamiento del sistema. Esta tesis aporta evidencia de que, en primer lugar, los márgenes sin cultivar de la región y diversas secuencias de cultivos constituyen reservorio de diversidad funcional microbiana. En segundo lugar, muestra que aquellos que están vegetados por especies leñosas influyen sobre sus lotes agrícolas vecinos. Finalmente, sugiere que el mecanismo subyacente podría ser la dispersión pasiva medida por el aporte de hojarasca de los márgenes a los lotes si bien otro tipo de aproximación, más controlada experimentalmente, sería necesaria para establecer los mecanismos.

En resumen, en un agroecosistema, la heterogeneidad puede ocurrir espontáneamente (márgenes no cultivados) o introducirse deliberadamente en el sistema agrícola para promover la biodiversidad y sus servicios (diversidad de cultivos). Si consideramos la heterogeneidad espacial en el paisaje de la Pampa Ondulada a la aportada por los distintos usos de la tierra (elementos cultivados y no cultivados) encontramos que, en relación a los servicios asociados al carbono del suelo, los ambientes herbáceos no se diferencian de los agrícolas, mientras que los suelos de los ambientes leñosos contienen un 50% más de carbono en la capa superficial del suelo. En cambio, los valores asociados a la diversidad funcional microbiana entre usos contrastantes mostraron que los ambientes herbáceos y leñosos poseen una mayor diversidad que la hallada en ambientes cultivados (14 y 25% más respectivamente). Por otro lado, si consideramos la heterogeneidad temporal en el paisaje de la Pampa Ondulada a la aportada por la siembra de distintas secuencias de cultivos en los lotes cultivados, encontramos que la incorporación de un solo cultivo diferente en la secuencia aumenta significativamente pero en mucho menor magnitud la diversidad funcional microbiana (4%), mientras que la inclusión de dos cultivos diferentes aumentó la diversidad un 26% respecto de secuencias sometidas al monocultivo. Estos resultados ponen de manifiesto que la incorporación de secuencias de cultivos diversas dentro de los lotes agrícolas permite conservar similar cantidad de funciones microbianas que los ambientes no cultivados dominados por especies leñosas. Es por ello que, a escala de paisaje en la Pampa Ondulada, el efecto negativo de la intensificación de la agricultura sobre la diversidad de especies de la biota edáfica presenta dos alternativas: a través de la conservación márgenes leñosos y mediante el uso de diversas secuencias de cultivos dentro de los lotes agrícolas. Este trabajo aporta una nueva perspectiva para la conservación de la diversidad microbiana a escala de paisaje, en donde la combinación de parches destinados al cultivo de diferentes especies dentro de los lotes agrícolas podría compensar la pérdida de diversidad por la intensificación agrícola y la disminución de parches no cultivados en el paisaje. Estudios como éste, orientados a conciliar los objetivos productivos con la conservación del ambiente y su funcionalidad, conforman un aporte clave para alcanzar la sustentabilidad del sistema.

En este sentido, aún resta aumentar nuestro entendimiento acerca de los mecanismos que determinan los patrones observados para la comunidad microbiana

detritívora y sus eventuales implicancias en términos de su estabilidad frente a cambios ambientales. Identificar y cuantificar la importancia relativa de los mecanismos detrás de los patrones observados permitiría optimizar el papel de los márgenes y de diferentes secuencias de cultivos en la conservación de diversidad estructural y funcional microbiana en el paisaje. Por ejemplo, (i) evaluar el papel relativo de la hojarasca (calidad y cantidad) y de las propiedades del suelo (contenido de materia orgánica, pH) como determinantes de la estructura y funcionamiento de la comunidad microbiana detritívora en parches cultivados y no cultivados (vegetados por especies herbáceas o leñosas). (ii) Evaluar si las características originales del parche (agrícola, herbáceo o leñoso) influyen sobre la estabilidad estructural y funcional de la comunidad microbiana detritívora en parches cultivados y no cultivados. (iii) Evaluar si el peso relativo de la hojarasca y de las propiedades del suelo sobre la estructura y funcionamiento de la comunidad microbiana detritívora en parches cultivados y no cultivados difiere cuando se analiza a distintas escalas (regional y local).

## **5.2. Conclusiones finales**

La intensificación de la agricultura es la causa principal de la transformación de hábitats naturales, la disminución de la heterogeneidad del paisaje agrícola y la alteración de servicios ecosistémicos, como la biodiversidad y el secuestro de carbono. La evidencia empírica en la Pampa Ondulada muestra que ambientes permanentemente vegetados, no cultivados e insertos en la matriz agrícola, aportan heterogeneidad en el paisaje y juegan un papel crítico en la conservación de especies animales y vegetales en el paisaje. Esta tesis aportó evidencia acerca de cómo la heterogeneidad espacial y temporal, dada por la presencia de elementos no cultivados en el paisaje y por diferentes secuencias de cultivos de los lotes cultivados, impacta sus propios contenidos de carbono del suelo y la biota edáfica, y sobre sus lotes cultivados vecinos e identificó mecanismos parcialmente responsables, tales como la cantidad, calidad y tasa descomposición de la hojarasca.

En relación con los efectos de la heterogeneidad espacial, esta tesis mostró que la presencia de márgenes sin cultivar con vegetación permanentemente dentro del paisaje agrícola modifica sus propios contenidos de carbono en la biomasa aérea, en la hojarasca, en la capa superficial del suelo y la diversidad funcional potencial de la comunidad de bacterias heterótrofas del suelo. Sin embargo, solo los márgenes dominados por vegetación leñosa se diferenciaron de los lotes agrícolas. Por el contrario, los márgenes herbáceos mostraron menores contenidos de carbono en la capa superficial del suelo que la situación control (lotes agrícolas). Los perfiles catabólicos y la diversidad funcional potencial de la comunidad microbiana también revelaron un patrón dependiente de los márgenes y lotes agrícolas. Ambos tipos de márgenes funcionan como reservorio de diversidad microbiana,



aunque estas diferencias encontradas en composición y diversidad no se relacionaron con las tasas de descomposición.

En relación con los efectos de la heterogeneidad temporal, esta tesis mostró que la secuencia de cultivos modifica la diversidad funcional de la biota edáfica y deja una huella en el suelo, posiblemente a través de una mayor producción de biomasa y hojarasca y/o mediante cambios en algunos parámetros físicos del suelo, que es posible detectar incluso luego de un año de imponer una misma secuencia de cultivos.

En relación con la influencia de los ambientes no cultivados sobre los lotes agrícolas, esta tesis mostró que solo los márgenes dominados por vegetación leñosa afectaron significativamente el contenido de carbono de la capa superficial del suelo, la cantidad de hojarasca y diversidad funcional de la microbiota del suelo de los lotes de soja vecinos. A su vez, este efecto disminuyó exponencialmente desde el margen (alambrado) hacia el centro del lote de soja vecino.

# BIBLIOGRAFÍA

---

Álvarez, CR, Costantini AO, Bono A, Taboada MÁ, Boem FHG, Fernández PL, Prystupa P (2011) Distribution and vertical stratification of carbon and nitrogen in soil under different managements in the pampean region of Argentina. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 35: 1985-1994.

Alvarez R (2005) A review of nitrogen fertilizer and conservation tillage effects on soil organic carbon storage. *Soil Use and Management* 21: 38-52.

Alvarez CR, Alvarez R (2000) Short-term effects of tillage systems on active soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 31: 157-161.

Álvarez CR, Taboada MA, Gutierrez Boem FH, Bono A, Fernandez PL, Prystupa P (2009) Topsoil properties as affected by tillage systems in the Rolling Pampa region of Argentina. *Soil Science Society of America Journal* 73: 1242-1250.

Alvarez R, Steinbach HS (2009) A review of the effects of tillage systems on some soil physical properties, water content, nitrate availability and crops yield in the Argentine Pampas. *Soil Tillage Research* 104: 1–15.

Alvarez R, Russo ME, Prystupa P, Scheiner JD, Blotta L (1998) Soil carbon pools under conventional and no-tillage systems in the Argentine Rolling Pampa. *Agronomy Journal* 90: 138-143.

Andrade JF (2012) Intensificación de los sistemas de producción de granos en la región pampeana: productividad y uso de recursos. Proyecto de doctorado. Escuela para graduados Alberto Soriano.

Andrén O, Bengtsson J, Clarholm M (1995) Biodiversity and species redundancy among litter decomposers. In *The significance and regulation of soil biodiversity*, pp: 141-151. Springer Netherlands

Aviron S, Burel F, Baudry J, Schermann N (2005) Carabid assemblages in agricultural landscapes: impacts of habitat features, landscape context at different spatial scales and farming intensity. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 108: 205–217.

Baker JM, Ochsner TE, Venterea RT, Griffis TJ (2007) Tillage and soil carbon sequestration—What do we really know? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 118: 1-5.

Balota EL, Colozzi-Filho A, Andrade DS, Dick RP (2003) Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. *Biology and Fertility of Soils* 38: 15-20.

Bardgett RD (2005) *The Biology of Soil. A Community and Ecosystem Approach*. Oxford University Press: Oxford.

Bardgett RD, McAlister E (1999) The measurement of soil fungal: bacterial biomass

ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. *Biology and Fertility of Soils* 29: 282–290.

Bardgett RD, Shine A (1999) Linkages between litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 317–321.

Baron JS, Hartman MD, Kittel TGF, Band EL, Ojima SD, Lammers, RB (1998) Effects of land cover, water redistribution, and temperature on ecosystem processes in the South Platte Basin. *Ecological Applications* 8:1037–1051.

Baudry J, Bunce RGH, Burel F (2000) Hedgerows: an international perspective on their origin, function and management. *Journal of Environmental Management* 60: 7–22.

Bechtold WA, Zarnoch SJ (1999) Fields methods and data processing techniques associated with mapped inventory plots. *USDA Forest Service Proceedings*, 421–424.

Bending GD, Putland C, Rayns F (2000) Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. *Biology and Fertility of Soils* 31: 78–84.

Bending GD, Turner MK, Jones JE (2002) Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1073–1082.

Bending GD, Turner MK, Rayns F, Marx MC, Wood M (2004) Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biology and Biochemistry* 36:1785–1792.

Bennett AF, Radford JF, Haslem A (2006) Properties of land mosaics: Implications for nature conservation in agricultural environments. *Biological Conservation* 133: 250–264.

Benton TG, Vickery JA, Wilson JD (2003) Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology and Evolution* 18:182–188.

Berthrong ST, Schadt CW, Pineiro G, Jackson RB (2009) Afforestation alters the composition of functional genes in soil and biogeochemical processes in South American grasslands. *Applied and environmental microbiology* 75: 6240–6248.

Bilenca DN, Gonzalez-Fischer CM, Teta P, Zamero M (2007) Agricultural intensification and small mammal assemblages in agroecosystems of the Rolling Pampas, central Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 121: 371–375.

Blitzer EJ, Dormann CF, Holzschuh A, Klein AM, Rand TA, Tscharntke T (2012) Spillover of functionally important organisms between managed and natural habitats. *Agriculture Ecosystems and Environments* 146: 34–43.

Blujdea VNB, Pilli R, Dutca I, Ciuvat L, Abrudan IV (2012) Allometric biomass equations for young broadleaved trees in plantations in Romania. *Forest Ecology Management* 264: 172–184.

Bossio DA, Girvan MS, Verchot L, Bullimore J, Borelli T, Albrecht A, Scow KM,

Ball AS, Pretty JN, Osborn AM (2005) Soil microbial community response to land use change in an agricultural landscape of western Kenya. *Microbial ecology* 49: 50-62.

Bossio DA, Scow KM, Gunapala N, Graham KJ (1998) Determinants of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microbial ecology* 36: 1-12.

Bossuyt H, Denef K, Six J, Frey SD, Merckx R, Paustian K (2001) Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology* 16: 195-208.

Bouwman LA, Zwart KB (1994) The ecology of bacterivorous protozoans and nematodes in arable soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 51:145-160.

Brashares JS, Arcese P, Sam MK (2001) Human demography and reserve size predict wildlife extinction in West Africa. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Science* 268: 2473-2478.

Brussaard L, De Ruiter PC, Brown GG (2007) Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 121: 233-244.

Burel F, Baudry J, Butet A (1998) Comparative biodiversity along a gradient of agricultural landscapes. *Acta Oecologica* 19: 47-60.

Burke IC, Yonker CM, Parton WJ, Cole CV, Flach K, Schimel DS (1989) Texture, climate, and cultivation effects on organic matter in U.S. grassland soils. *Soil Science Society of America Journal* 53: 800-805.

Cabrera AL (1949) Las comunidades vegetales de los alrededores de La Plata. *Lilloa* 20: 269-376.

Cabrera AL (1968) Vegetación de la provincia de Buenos Aires. En (ed. AL Cabrera) *Flora de la provincia de Buenos Aires. 1. Colecc. Cientif. IV*, INTA, Buenos Aires.

Cabrera AL (1994) *Regiones fitogeográficas argentinas*. Acme, Buenos Aires.

Campbell CA, Leyshon AJ, Zentner RP, LaFond GP, Janzen HH (1991) Effect of cropping practices on the initial potential rate of N mineralization in a thin Black Chernozem. *Canadian journal of soil science* 71: 43-53.

Campbell CA, Zentner RP (1993) Soil organic matter as influenced by crop rotations and fertilization. *Soil Science Society of America Journal* 57: 1034-1040.

Caride C, Piñeiro G, Paruelo JM (2012) How does agricultural management modify ecosystem services in the Argentine Pampas? The effects on soil C dynamics. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 154: 23-33.

Casas R (2005). Efectos de la intensificación agrícola sobre los suelos. *Ciencia Hoy* 87: 42-3.

Castro A, Menjívar JC, Barrios E, Asakawa N, Borrero G, García E, Rao I (2010) Dynamics of soil nitrogen and phosphorus in three land use systems on hillsides of Honduras. *Acta Agronómica* 59: 410-419.

Chaneton EJ, Mazia CN, Machera M, Uchitel A, Ghera C M (2009) Establishment

of Honey Locust (*Gleditsia triacanthos*) in Burned Pampean Grasslands<sup>1</sup>.

Chapin FS, Zavaleta ES, Eviner VT, Naylor RL, Vitousek PM, Reynolds HL, Hooper DU, Díaz, S (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405: 234-242.

Chesson P (2000) Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual review of Ecology and Systematics* 31: 343-366.

CNA (2008) Censo Nacional Agropecuario 2008. Resultados generales. INDEC, Buenos Aires.

Couteaux MM, Bottner P, Berg B (1995) Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 63-66.

Daily G (1997) *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press.

Dale VH, Polasky S (2007) Measures of the effects of agricultural practices on ecosystem services. *Ecological economics* 64: 286-296.

Dascanio LM, Barrera MD (1994) Biomass structure and dry matter dynamics of subtropical alluvial and exotic *Ligustrum* forest at the Rio de la Plata, Argentina. *Plant Ecology* 115: 61-76.

Davidson EA, Janssen IA (2006) Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440: 165-173.

De Vries FT, Hoffland E, van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J (2006) Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2092-2103.

Degens BP (1998) Decrease in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1989-2000.

de la Fuente EB, Perelman S, Ghersa CM (2010) Weed and arthropod communities in soybean as related to crop productivity and land use in the Rolling Pampa, Argentina. *Weed Research* 50: 561-571.

de la Fuente EB, Suárez SA (2008) Problemas ambientales asociados a la actividad humana: la agricultura. *Ecología austral* 18: 239-252.

de la Fuente EB, Suárez S, Ghersa CM (2006) Soybean weed community composition and richness between 1995 and 2003 in the Rolling Pampas (Argentina). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 115: 229-236.

Dick RP (1992) A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 40: 25-36.

Di Salvo LP, García de Salamone IE (2012) Evaluation of soil-microbial communities by their CLPP. Standardization of a laboratory technique to replace commercial available microplates. *Ecología Austral* 22: 129-136.

Dunne JA, Williams RJ, Martinez ND (2002) Network structure and biodiversity

loss in food webs: robustness increases with connectance. *Ecology letters* 5: 558-567.

Dyer ML, Meentemeyer V, Berg B (1990) Apparent controls of mass loss rate of leaf litter on a regional scale: litter quality vs. climate. *Scandinavian Journal of Forest Research* 5: 311-323.

Eclesia RP, Jobbagy EG, Jackson RB, Biganzoli F, Piñeiro G (2012) Shifts in soil organic carbon for plantation and pasture establishment in native forests and grasslands of South America. *Global Change Biology* 18: 3237-3251.

Ehrlich PR, Mooney HA (1983) Extinction, substitution, and ecosystem services. *BioScience* 33:248-253.

Ettema CH, Wardle DA (2002) Spatial soil ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 17: 177-183.

Ewers RM, Didham RK (2008) Pervasive impact of large-scale edge effects on a beetle community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 5426-5429.

Fernández PL, Alvarez CR, Taboada MA (2011) Assessment of topsoil properties in integrated crop-livestock and continuous cropping systems under zero tillage. *Soil Research* 49: 143-151.

Ferraro DO, Ghera CM, Sznajder GA (2003) Evaluation of environmental impact indicators using fuzzy logic to assess the mixed cropping systems of the Inland Pampa, Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 96: 1-18.

Fierer N, Grandy AS, Six J, Paul EA (2009) Searching for unifying principles in soil ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 41: 2249-2256.

Fierer N, Ladau J, Clemente JC, Leff JW, Owens SM, Pollard KS, Knight R, Gilbert JA, McCulley RL (2013) Reconstructing the Microbial Diversity and Function of Pre-Agricultural Tallgrass Prairie Soils in the United States. *Science* 342: 621-624.

Fierer N, Jackson RB (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 626-631.

Figuerola EL, Guerrero LD, Rosa SM, Simonetti L, Duval ME, Galantini JA, Bedano JC, Wall LG, Erijman L (2012) Bacterial indicator of agricultural management for soil under no-till crop production. *PloS one* 7: e51075.

Finlay BJ (2002) Global dispersal of free-living microbial eukaryote species. *Science* 296: 1061-1063.

Fischer J, Lindenmayer DB, Manning AD (2006) Biodiversity, ecosystem function, and resilience: ten guiding principles for commodity production landscapes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4: 80-86.

Foley JA, DeFries R, Asner GP, Barford C, Bonan G, Carpenter SR, Chapin S F et al. (2005) Global consequences of land use. *Science* 309: 570-574.

Follain S, Walter C, Legout A, Lemerrier B, Dutin G (2007) Induced effects of hedgerow networks on soil organic carbon storage within an agricultural landscape.

*Geoderma* 142: 80-95.

Follett RF (2001) Soil management concepts and carbon sequestration in cropland soils. *Soil and Tillage Research* 61: 77-92.

Forman RTT (1995) *Land mosaics: The ecology of landscapes and regions*. Cambridge University Press.

Freibauer A, Rounsevell MD, Smith P, Verhagen J (2004) Carbon sequestration in the agricultural soils of Europe. *Geoderma* 122: 1-23.

Frey SD, Knorr M, Parrent JL, Simpson RT (2004) Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests. *Forest Ecology and Management* 196: 159-171.

Gallardo A (2003) Effect of tree canopy on the spatial distribution of soil nutrients in a Mediterranean Dehesa. *Pedobiologia* 47: 117-125.

Garland JL (1997) Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 24: 289-300.

Garland JL, Mills AL (1991) Classification and Characterization of Heterotrophic Microbial Communities on the Basis of Patterns of Community-Level Sole-Carbon-Source Utilization. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 2351-2359.

Gaston KJ, Pressey RL, Margules CR (2002). Persistence and vulnerability: retaining biodiversity in the landscape and in protected areas. *Journal of Biosciences* 27: 361-384.

Ghersa CM, de la Fuente E, Suarez S, Leon RJC (2002) Woody species invasion in the Rolling Pampa grasslands, Argentina. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88: 271-278.

Ghersa CM, León RJC (1999) Successional changes in agroecosystems of the Rolling Pampa. *Ecosystems of the world 16. Ecosystem of disturbed ground*. Elsevier, Nueva York, pp. 487-502.

Giller KE, Beare MH, Lavelle P, Izac A, Swift MJ (1997) Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied soil ecology* 6: 3-16.

Gómez E, Garland J, Conti M (2004) Reproducibility in the response of soil bacterial community- level physiological profiles from a land use intensification gradient. *Applied Soil Ecology* 26: 21-30.

Gomez E, Garland JL (2012) Effects of tillage and fertilization on physiological profiles of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 61: 327-332.

González A, Chaneton EJ (2002) Heterotroph Species Extinction, Abundance and Biomass Dynamics in an Experimentally Fragmented Microecosystem. *Journal of Animal Ecology* 71: 594-602.

González-Chávez MDCA, Aitkenhead-Peterson JA, Gentry TJ, Zuberer D, Hons F, Loeppert R (2010) Soil microbial community, C, N, and P responses to long-term tillage and crop rotation. *Soil and Tillage Research* 106: 285-293.

Govaerts B, Mezzalama M, Unno Y, Sayre KD, Luna-Guido M, Vanherck K, Dendooven L, Deckers J (2007) Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. *Applied soil ecology* 37: 18-30.

Gregorich EG, Greer KJ, Anderson DW, Liang BC (1998) Carbon distribution and losses: erosion and deposition effects. *Soil and Tillage Research* 47: 291-302.

Griffiths BS, Ritz K, Wheatley R, Kuan HL, Boag B, Christensen S, Ekelund F, Sorensen SJ, Muller S, Bloem J (2001) An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1713–1722.

Halvorson AD, Reule CA, Follett RF (1999) Nitrogen fertilization effects on soil carbon and nitrogen in a dryland cropping system. *Soil Science Society of America Journal* 63: 912-917.

Hanel L (2003) Recovery of soil nematode populations from cropping stress by natural secondary succession to meadow land. *Applied Soil Ecology* 22:255-270.

Harmon ME, Nadelhoffer KJ, Blair JM (1999) Measuring decomposition, nutrient turnover, and stores in plant litter. *Standard soil methods for long-term ecological research*. Oxford University Press, New York, 202-240.

Jackson RB, Canadell J, Ehleringer JR, Mooney HA, Sala OE, Schulze ED (1996) A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* 108: 389-411.

Jangid K, Williams MA, Franzluebbers AJ, Sanderlin JS, Reeves JH, Jenkins MB, Endale DM, Coleman DC, Whitman WB (2008) Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2843-2853.

Jiang Z, Liang Z, Zhang M, Yang Y (2008) Investigation of the former year biomass of *Brossonetia papyrifera* (L.). *Journal Science Technology* 4: 34-41.

Jobbágy EG, Jackson R B (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological applications* 10: 423-436.

Jobbágy EG, Noretto MD, Santoni CS, Baldi G (2008) El desafío ecohidrológico de las transiciones entre sistemas leñosos y herbáceos en la llanura Chaco-Pampeana. *Ecología Austral* 18: 305-322.

Kirschbaum MU (2003) Can trees buy time? An assessment of the role of vegetation sinks as part of the global carbon cycle. *Climatic Change* 58: 47-71.

Klein AM, Steffan-Dewenter I, Tschamtkke T (2003) Fruit set of highland coffee increases with the diversity of pollinating bees. *Proceedings of The Royal Society* 270: 955–961.

Knorr M, Frey SD, Curtis PS (2005) Nitrogen additions and litter decomposition: A meta-analysis. *Ecology* 86: 3252–3257.

Korthals GW, Smilauer P, Van Dijk C, Van der Putten WH (2001) Linking above-and below-ground biodiversity: abundance and trophic complexity in soil as a response to experimental plant communities on abandoned arable land. *Functional*



Ecology 15: 506-514.

Kuzyakov Y, Domanski G (2000) Carbon input by plants into the soil. Review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163: 421-431.

Landis D, Marino P (1999) Landscape structure and extrafield processes: impact on management of pests and beneficials. In *Handbook of pest management* (ed. J. R. Ruberson): 79–104, New York.

Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N (2009) Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and environmental microbiology* 75: 5111-5120.

Lauber CL, Strickland MS, Bradford MA, Fierer N (2008) Soil properties that structure bacterial and fungal communities across a land-use gradient. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 2407–2415.

León RJC, Rusch GM, Oesterheld M (1984) Pastizales pampeanos, impacto agropecuario. *Phytocoenol* 12: 201-218.

Liao JD, Boutton TW (2008) Soil microbial biomass response to woody plant invasion of grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1207-1216.

Liiri M, Seala H, Pennanen T, Fritze H (2002) Relationship between microarthropod species diversity and plant growth does not change when the system is disturbed. *Oikos* 96: 137-149.

Luo Z, Wang E, Sun OJ (2010) Can no-tillage stimulate carbon sequestration in agricultural soils? A meta-analysis of paired experiments. *Agriculture Ecosystems and Environment* 139: 224–231.

Lupwayi NZ, Rice WA, Clayton GW (1998) Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1733-1741.

Lupwayi NZ, Rice WA, Clayton GW (1999) Soil microbial biomass and carbon dioxide flux under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Canadian journal of soil science* 79: 273-280.

Mäder P, Fliessbach A, Dubois D, Gunst L, Fried P, Niggli U (2002) Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.

Maharning AR, Mills AA, Adl SM (2009) Soil community changes during secondary succession to naturalized grasslands. *Applied soil ecology* 41: 137-147.

Marinissen JCY, Van den Bosch F (1992) Colonization of new habitats by earthworms. *Oecologia* 91: 371-376.

Marshall EJP, Brown VK, Boatman ND, Lutman PJW, Squire GR, Ward LK (2003) The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. *Weed research* 43: 77-89.

Marshall EJP, Moonen AC (2002) Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 89: 5-21.

Martin-Rueda I, Munoz-Guerra LM, Yunta F, Esteban E, Tenorio JL, Lucena JJ (2007) Tillage and crop rotation effects on barley yield and soil nutrients on a *Calciortidic Haploxeralf*. *Soil and Tillage Research* 92: 1-9.

Martiny JBH, Bohannan BJ, Brown JH, Colwell RK, Fuhrman JA, Green JL, Staley JT (2006) Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Reviews Microbiology* 4: 102-112.

Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science* 277: 504-509.

McLaughlin A, Mineau P (1995) The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture Ecosystems and Environment* 55: 201-212.

Molina GAR (2014) Influencia de la heterogeneidad del paisaje sobre la diversidad y la estructura trófica de los ensambles de artrópodos en ambientes agrícolas de la Pampa Ondulada. Tesis doctoral. Escuela para Graduados Alberto Soriano.

Moreno G (2008) Response of understorey forage to multiple tree effects in Iberian dehesas. *Agriculture, ecosystems and environment* 123: 239-244.

Mosier AR, Duxbury JM, Freney JR, Heinemeyer O, Minami K, Johnson DE (1998) Mitigating Agricultural Emissions of Methane. *Climatic Change* 40: 39-80.

Mosier A, Schimel D, Valentine D, Bronson K, Parton W (1991) Methane and nitrous oxide fluxes in native, fertilized and cultivated grasslands. *Nature* 350: 330-332.

Nannipieri P, Badalucco L (2003) Biological processes. In: *Processes in the Soil-Plant System: Modelling Concepts and Applications*. The Haworth Press, Binghamton, NY.

Navarro-Noya YE, Gómez-Acata S, Montoya-Ciriaco N, Rojas-Valdez A, Suárez-Arriaga MC, Valenzuela-Encinas C, Jiménez-Bueno N, Verhulst N, Govaerts B, Dendooven L (2013) Relative impacts of tillage, residue management and crop-rotation on soil bacterial communities in a semi-arid agroecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 65: 86-95.

Norman JM, Garcia R, Verma SB (1992) Soil surface CO<sub>2</sub> fluxes and the carbon budget of a grassland. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 97: 18845-18853.

Norris K (2008) Agriculture and biodiversity conservation: opportunity knocks. *Conservation Letters* 1: 2-11.

Okin GS, Gillette DA, Herrick JE (2006) Multi-scale controls on and consequences of aeolian processes in landscape change in arid and semi-arid environments. *Journal of Arid Environment* 65: 253-275.

Parodi LR (1930) Ensayo fitosociológico sobre el Partido de Pergamino. *Rev Fac Agron Vet UBA*. 271 p.

Parodi LR (1947) La estepa pampeana. En: Hauman L, Burkart A, Parodi LR, Cabrera AL (eds) *La Vegetación de la Argentina*. Capítulo de Geografía de la República Argentina, VIII. Imprenta y casa editora Coni: Buenos Aires.

Paruelo JM, Guerschman JP, Verón SR (2005) Expansión agrícola y cambios en el uso del suelo. *Ciencia Hoy* 15: 14-23.

Pimentel D, Harvey C, Resosudarmo P, Sinclair K, Kurz D, McNair M, Crist S, Shpritz L, Fitton L, Saffouri R, Blair R (1995) Environmental and economic costs of soil erosion and conservation benefits. *Science* 267: 1117–1123.

Pimentel D, Stachow U, Takacs DA, Brubaker HW, Dumas AR, Meaney JJ, O'Neil JAS, Onsi DE, Corzilius DB (1992) Conserving biological diversity in agricultural/forestry systems. *Bioscience* 42: 354-362.

Poggio S L, Chaneton EJ, Ghera CM (2010) Landscape complexity differentially affects alpha, beta, and gamma diversities of plants occurring in fencerows and crop fields. *Biological Conservation* 143: 2477-2486.

Poggio SL, Chaneton EJ, Ghera CM (2013) The arable plant diversity of intensively managed farmland: Effects of field position and crop type at local and landscape scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 166: 55-64.

Postma-Blaauw MB, de Goede RGM, Bloem J, Faber JH, Brussaard L (2010) Soil biota community structure and abundance under agricultural intensification and extensification. *Ecology* 91: 460-473.

Potthoff M, Johst K, Gutt J, Wissel C (2006) Clumped dispersal and species coexistence. *Ecological Modelling* 198: 247-254.

Rantalainen ML, Haimi J, Fritze H, Setälä H (2006) Effects of small-scale habitat fragmentation, habitat corridors and mainland dispersal on soil decomposer organisms. *Applied Soil Ecology* 34: 152–159.

Rantalainen ML, Haimi J, Setälä H (2004) Testing the usefulness of habitat corridors in mitigating the negative effects of fragmentation: the soil faunal community as a model system. *Applied Soil Ecology* 25: 267–274.

Rantalainen ML, Haimi J, Fritze H, Pennanen T, Setälä H (2008) Soil decomposer community as a model system in studying the effects of habitat fragmentation and habitat corridors. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 853-863.

Richter M, Mizuno I, Aranguez S, Uriarte S (1975) Densimetric fractionation of soil organo-mineral complexes. *Journal of Soil Science* 26: 112-123.

Robles MD, Burke IC (1997) Legume, grass, and Conservation Reserve Program effects on soil organic matter recovery. *Ecological Applications* 7: 345–357.

Roper MM, Gupta VVSR (1995) Management-practices and soil biota. *Soil Research* 33: 321-339.

Saetre P, Bååth E (2000) Spatial variation and patterns of soil microbial community structure in a mixed spruce–birch stand. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 909–917.

Sainju UM, Caesar-TonThat T, Lenssen AW, Evans RG, Kolberg R (2007) Long-term tillage and cropping sequence effects on dryland residue and soil carbon fractions. *Soil Science Society of America Journal* 71: 1730-1739.

Sainz Rozas HR, Echeverria HE, Angelini HP (2011) Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana argentina. *Ciencia del suelo* 29: 29-37.

Satorre EH (2005) Cambios tecnológicos en la agricultura argentina actual. *Ciencia Hoy* 15: 24-31.

Schmidt MH, Roschewitz I, Thies C, Tschamtkke T (2005) Differential effects of landscape and management on diversity and density of ground-dwelling farmland spiders. *Journal of Applied Ecology* 42: 281-287.

Schroth G, da Fonseca AB, Harvey CA, Gascon C, Vasconcelos HL, Izac AMN (2004) *Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes*. Island Press, Washington, USA.

Seastedt TR (1984) The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes. *Annual Review of Entomology* 29: 25-46.

Semmartin M, Di Bella C, García de Salamone IE (2010) Grazing-induced changes in plant species composition affect plant and soil properties of grassland mesocosms. *Plant and Soil* 328:471-481.

Semmartin M, Oyarzábal M, Loreti J, Oesterheld M (2007) Controls of primary productivity and nutrient cycling in a temperate grassland with year-round production. *Austral Ecology* 32: 416-428.

Simón N, Montes F, Díaz-Pinés E, Benavides R, Roig S, Rubio A (2013) Spatial distribution of the soil organic carbon pool in a Holm oak dehesa in Spain. *Plant and soil* 366: 537-549.

Six JAET, Elliott ET, Paustian K (2000) Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 2099-2103.

Soriano A, León RJC, Sala OE, Lavado R, Deregibus VA, Cauhepé MA, Scaglia OA, Velázquez CA, Lemcoff JH (1991) Río de la Plata Grasslands. En Couplant RT (ed) *Natural Grasslands. Introduction and Western Hemisphere*. *Ecosystems of the World* 19: 367-407.

Stetson SJ, Osborne SL, Eynard A, Chilom G, Rice J, Nichols KA, Pikul JL (2012) Corn residue removal impact on topsoil organic carbon in a corn–soybean rotation. *Soil Science Society of America Journal* 76: 1399-1406.

Swift MJ, Heal OW, Anderson JM (1979) *Decomposition in terrestrial ecosystems*. University of California Press, Berkeley.

Swift MJ, Izac AMN, van Noordwijk M (2004) Biodiversity and ecosystem services in agricultural landscapes – are we asking the right questions. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 104: 113-134.

Toky OP, Bisht RP (1993) Above-ground and below-ground biomass allocation in important fuelwood trees from arid north western India. *Journal of Arid Environments* 25: 315-320.

Tschamtkke T, Klein AM, Krüess A, Steffan-Dewenter I, Thies C (2005) Landscape perspective on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecology Letters* 8: 857–874.

Turner MG, Gardner RH, O'Neill RV (2001) Landscape ecology in theory and practice: pattern and process. Springer-Verlag, New York.

Upchurch R, Chiu CY, Everett K, Dyszynski G, Coleman DC, Whitman WB (2008) Differences in the composition and diversity of bacterial communities from agricultural and forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1294-1305.

Van Soest PJ (1963) Use of detergents in analysis of fibrous feeds II: a rapid method for determination of fiber and lignin. *Association of Official Analytical Chemists* 4: 829-835.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.

Viglizzo<sup>a</sup> EF, Ricard MF, Jobbágy EG, Frank FC, Carreño LV (2011) Assessing the cross-scale impact of 50 years of agricultural transformation in Argentina. *Field Crops Research* 124: 186-194.

Viglizzo<sup>b</sup> EF, Frank FC, Carreño LV, Jobbágy EG, Pereyra H, Clatt JZ, Pincén D, Ricard F (2011) Ecological and environmental footprint of 50 years of agricultural expansion in Argentina. *Global Change Biology* 17: 959-973.

Walter C, Merot P, Laver B, Dutin G (2003) The effect of hedgerows on soil organic carbon storage in hillslopes. *Soil Use and Management* 19: 201-207.

Wardle DA (1995) Impacts of disturbance on detritus food webs in agro-ecosystems of contrasting tillage and weed management practices. *Advances in Ecological Research* 26: 105-185.

Wardle DA (2002) *Communities and Ecosystems: Linking the Aboveground and Belowground Components*. Princeton University Press, Princeton, NJ.

Wardle DA, Bardgett R, Klironomos J, Setälä H, van der Putten WH, Wall D (2004) Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304: 1629-1633.

Wardle DA, Hörnberg G, Zackrisson O, Kalela-Brundin M, Coombes DA (2003) Long term effects of wildfire on Ecosystem properties across an island area gradient. *Science* 300: 972-975.

Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 6578-6583.

Yeates GW, Bardgett RD, Cook R, Hobbs PJ, Bowling PJ, Potter JF (1997) Faunal and microbial diversity in three Welsh grassland soils under conventional and organic management regimes. *Journal of Applied Ecology* 34: 453-470.

Zhang D, Hui D, Luo Y, Zhou G (2008) Rates of litter decomposition in terrestrial ecosystems: global patterns and controlling factors. *Journal of Plant Ecology* 1: 85-93.

Zak DR, Colmes WE, White DC, Peacock AD, Tilman D (2003) Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology* 84: 2042-2050.

Zelles L (1999) Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils* 29: 111–29.